



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

AVALIAÇÃO DE EVENTOS ADVERSOS – AUMENTO DE CREATININA E/OU UREIA
SÉRICAS, EM GATOS SUBMETIDOS À ADMINISTRAÇÃO DE DOXORRUBICINA

Maria Serôdio Ferreira Fernandes

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Constança Matias Ferreira

Pomba

Doutora Anabela de Sousa Santos da Silva

Moreira

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira

São Braz

ORIENTADORA

Doutora Berta Maria Fernandes

Ferreira São Braz

CO-ORIENTADOR

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2018

LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA
Faculdade de Medicina Veterinária

AVALIAÇÃO DE EVENTOS ADVERSOS – AUMENTO DE CREATININA E/OU UREIA
SÉRICAS, EM GATOS SUBMETIDOS À ADMINISTRAÇÃO DE DOXORRUBICINA

Maria Seródio Ferreira Fernandes

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Constança Matias Ferreira
Pomba

Doutora Anabela de Sousa Santos da
Silva Moreira

Doutora Berta Maria Fernandes Ferreira
São Braz

ORIENTADORA

Doutora Berta Maria Fernandes
Ferreira São Braz

CO-ORIENTADOR

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

2018
LISBOA

À minha Mãe e avós Tence e Teresa, guerreiras.

Agradecimentos

À minha família, e mais que tudo, à minha Mãe. Obrigado. Aos meus pais, e irmãos, Sofia, Rui, António e Pedro. E avós, tios e tias, primos e primas. Desculpem não vos enumerar a todos, mas sabem que somos “mais c’ás mães”.

À FMV, por todo um percurso académico, que me faz sentir orgulhosa da casa pela qual passei.

À Professora Berta, por nunca perder a calma na minha tempestade e conseguir dar-me um rumo, o meu muito obrigado.

Ao meu maior exemplo, e melhor co-orientador, Dr. Gonçalo Vicente, pelo sorriso, brincadeira, e seriedade, com que sempre me ensinou.

Era uma criança, palavras tuas. Espero ter crescido um bocadinho.

Ao Professor Telmo, o “guru” da estatística e o psicólogo dos estudantes finalistas do MIMV que chegam ao seu gabinete em desespero, e saem de lá com outro espírito.

Às primeiras médicas veterinárias que me inspiraram a seguir este longo caminho, Dra. Ana Vidazinha e Dra. Joana Tabanez.

À equipa da VetVisão, por me ter permitido complementar o meu percurso académico numa forma mais prática, Dra. Ana Paula Resende e Dra. Elsa Pereira, e especialmente à minha querida enfermeira Carolina Rebelo, que sempre confiou em mim e me fez sentir capaz de tudo. Aos doutores, Gonçalo, Joana, Miguel, Filipa e Carlota. Obrigado pelas respostas a todas as perguntas e oportunidades de praticar.

À equipa do Hospital Escolar, todos os médicos, enfermeiros e auxiliares com os quais tive a honra de aprender a exercer esta nobre profissão. Vocês ensinaram-me mais do que possam imaginar, dentro e fora da profissão. O vosso apoio no sucesso e insucesso foi fundamental, tal como a confiança depositada em mim. Obrigado pelas amizades para a vida, por todo o conhecimento transmitido e por todo o apoio, especialmente à Dra. Maria Francisca, Dr. Gonçalo, Dra. Leonor, Dra. Joana Pontes, Dra. Inês Marquês, Dr. Hugo e aos meus queridos enfermeiros, Maggie, Filipe, Raquel, Magali, Élia, Patrícia, Soraia, Luís, Pardala, e a todos os que não mencionei. Não me vou esquecer de nenhum.

Ao meu saco de boxe, ao meu namorado, Bruno. Obrigado por me acompanhares nestes anos todos, e não teres fugido nos piores momentos. És a pessoa que me conhece melhor, e sabe o quanto passei. Sem o teu apoio não teria sido possível vingar neste curso.

Amo-te.

Aos amigos que a faculdade me trouxe, e aturaram a minha pessoa eléctrica estes anos todos. Especialmente às minhas “migas”, Mariana e Joana, ao meu Dori, à minha MJ, à minha Kelly, à minha Riquinho, ao meu Chico, à minha Rato. Obrigados aos estagiários com os quais partilhei momentos de aprendizagem e também de pura diversão, amizades que só floresceram no final do curso, mas marcam. Obrigado Ritinha, por tantas horas passadas no bloco.

Aos meus amigos conterrâneos, muitos deles comigo desde a primária. Obrigado, Rochinha, Johnny, Bino, JP, Gameira, e a todos os restantes. Que a nossa amizade nunca desapareça com o tempo.

Não me poderia esquecer dos meus maiores impulsionadores para seguir esta profissão, a minha gata Sushi, e cadelas Pipa e Kida.

AVALIAÇÃO DE EVENTOS ADVERSOS – AUMENTO DE CREATININA E/OU UREIA SÉRICAS, EM GATOS SUBMETIDOS À ADMINISTRAÇÃO DE DOXORRUBICINA

Resumo

A utilização terapêutica de compostos quimioterápicos é, hoje em dia, cada vez mais comum devido ao aumento de prevalência de casos oncológicos em animais de companhia, o que culmina na ocorrência crescente de efeitos adversos relacionados com essa mesma terapêutica. Face às suas funções de filtração, secreção e reabsorção de substâncias e submissão a 25% do débito cardíaco, os rins estão bastante expostos a estes compostos e/ou aos seus metabolitos, pelo que o risco de nefrotoxicidade é elevado. Uma das respostas fisiopatológicas renais à lesão é o desenvolvimento de doença renal crónica (DRC), caracterizada por uma perda progressiva e irreversível da função renal. A doxorubicina é uma antraciclina, um antibiótico com acção anti-tumoral e com acção tóxica em diversos tecidos podendo provocar lesão renal, mielossupressão, anorexia e perda de peso. A espécie felina é particularmente susceptível à acção tóxica renal da doxorubicina.

O estudo retrospectivo, apresentado, foi realizado numa amostra populacional de 28 gatos – utentes do Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV) – com neoplasia e que foram submetidos à administração de doxorubicina. Neste estudo avaliou-se a ocorrência de alteração de parâmetros de função renal, em particular da creatinina e ureia séricas, no sentido de estabelecer uma possível relação causa-efeito. Os resultados obtidos mostram que após a administração de uma mediana de dose cumulativa de 100 mg/m² de doxorubicina, os valores iniciais de creatinina e ureia aumentaram significativamente ($P=0,002$; $P=0,018$). A azotémia desenvolveu-se num espaço de, aproximadamente, 5 meses, com uma prevalência de 61%, e pelo menos, 39% destes animais desenvolveram DRC. Contudo, é difícil comprovar que a disfunção renal progressiva em gatos geriátricos, com neoplasias, com possível doença renal não relacionada ou subdiagnosticada, se deva directamente à administração de doxorubicina, no entanto é perceptível o risco de uma lesão irreversível, assim é necessário precaução no uso deste fármaco em felinos e uma monitorização renal constante.

Palavras-chave: Quimioterapia; doxorubicina; gatos; creatinina; ureia; nefrotoxicidade.

EVALUTATION OF ADVERSE EFFECTS – INCREASE IN SERUM CREATININ AND/OR UREA, IN CATS UNDERGOING DOXORUBICIN ADMINISTRATION

Abstract

Nowadays, the use of chemotherapeutic agents is more common due to the increased prevalence of oncological cases in companion animals, accompanied by an increasing occurrence of adverse events related to this therapy. Due to its filtration, secretion and reabsorption functions, and submission to 25% of cardiac output, the kidneys are highly exposed to these agents and/or their metabolites, and the risk of nephrotoxicity is high. One of the pathophysiological renal responses to injury is the development of chronic kidney disease (CKD), characterized by progressive and irreversible loss of renal function. Doxorubicin is an anthracycline, an antineoplastic antibiotic with a toxic action on several tissues, which can lead to renal damage, myelosuppression, anorexia and weight loss. The feline species is particularly susceptible to its renal toxic effects.

The retrospective study was performed in a population sample of 28 tumor-bearing cats – patients of the School Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine of the University of Lisbon (HEV-FMV) – who underwent doxorubicin administration. This study evaluated the occurrence of alterations in renal function parameters, particularly serum creatinine and urea, in order to establish a possible cause-effect relationship. The results show that after the administration of a median cumulative dose of 100 mg/m² of doxorubicin, the initial serum creatinine and urea values have increased significantly ($P=0,002$; $P=0,018$). The azotemia developed in a space of approximately 5 months, with a prevalence of 61%, and at least 39% of those animals developed CKD. However, it is difficult to prove that progressive renal dysfunction in geriatric tumour-bearing cats with possible unrelated or undiagnosed renal disease is due directly to the administration of doxorubicin, however the risk of irreversible damage is perceptible, and therefore caution is needed in the use of this drug in cats as for the constant renal monitoring.

Key words: Chemotherapy; doxorubicin; cats; creatinin; urea; nephrotoxicity.

Índice geral

Agradecimentos.....	i
Resumo	iii
Abstract	iv
Índice geral	v
Índice de gráficos	vii
Índice de figuras	vii
Índice de imagens	vii
Índice de tabelas	vii
Lista de abreviaturas	viii
I. DESCRIÇÃO DE ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR	1
II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
1. Introdução.....	4
2. O sistema renal e a resposta à lesão.....	5
2.1. Breves noções embriológicas e anatómicas do rim	5
2.2. Fisiologia renal	7
2.2.1. Filtração glomerular	7
2.2.2. Reabsorção e secreção tubular	8
2.2.3. Balanço hídrico.....	10
2.2.4. Balanço ácido-base	10
2.3. Nefrotoxicidade	11
2.3.1. Padrões de lesão renal.....	11
2.4. Resposta fisiopatológica do rim	12
2.4.1. Doença renal crónica (DRC).....	12
2.4.1.1. Consequências clínicas	13
2.4.1.2. Estadiamento	14
2.5. Avaliação da função renal	15
2.5.1. Concentração de creatinina sérica	17
2.5.2. Concentração de ureia azotada sanguínea (BUN)	18
3. Quimioterapia	19
3.1. Doxorrubicina	22
3.1.1. Farmacocinética	22
3.1.2. Farmacodinâmica	23
3.1.3. Aplicações clínicas	25

3.1.4. Posologia.....	26
3.1.5. Efeitos adversos.....	27
3.1.5.1. Nefrotoxicidade induzida pela doxorubicina (NID)	30
3.1.5.1.1. Carácter crónico	32
3.1.5.1.2. Stress oxidativo	32
3.1.5.1.3. Alterações estruturais	33
3.1.5.1.4. Estratégias terapêuticas na NID	36
3.1.5.1.4.1. Quimioterapia alternativa	36
3.1.5.1.4.2. Doxorubicina encapsulada em lipossomas	37
3.1.5.1.4.3. Antioxidantes	37
3.1.5.1.4.4. Fármacos moduladores do sistema renina-angiotensina-aldosterona....	38
3.1.5.1.4.5. Outros.....	39
III. ESTUDO RETROSPECTIVO: Avaliação de eventos adversos – aumento de creatinina e/ou ureia séricas – em gatos submetidos à administração de doxorubicina	40
1. Introdução.....	40
2. Material e métodos	40
2.1. Amostra populacional	40
2.2. Administração de doxorubicina.....	41
2.3. Parâmetros renais	42
2.4. Análise estatística.....	42
3. Resultados.....	43
3.1. Caracterização da amostra populacional.....	43
3.2. Sessões de quimioterapia	44
3.3. Nefrotoxicidade	45
4. Discussão	50
5. Conclusão.....	55
IV. BIBLIOGRAFIA.....	56
V. ANEXOS	65
Anexo 1 - Descrição geral de diferentes fármacos quimioterápicos	65
Anexo 2 – Dados populacionais.....	66
Anexo 3 – Parâmetros renais por animal	67
Anexo 4 - Relação entre a dose administrada de 25 mg/m ² e a sua conversão em dose por peso corporal (mg/kg)	69
Anexo 5. Trabalho apresentado em forma de painel no Congresso do <i>Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health</i> (CIISA) de 16 a 17 de Novembro de 2018	70

Índice de gráficos

Gráfico 1 - Curva de Kaplan-Meier para os 28 gatos submetidos à administração de doxorubicina.	47
Gráfico 2 - Curvas de Kaplan-Meier para as classes de peso <4,5 kg e >4,5 kg; p = 0,912 48	
Gráfico 3 - Curva de Kaplan-Meier para as classes etárias ≤10 anos e >10anos; p = 0,000682	49

Índice de figuras

Figura 1 - Anatomia renal e do nefrônio (original da autora).....	5
--	---

Índice de imagens

Imagem 1 - Infusão lenta de doxorubicina a paciente felino	41
---	----

Índice de tabelas

Tabela 1 - Complicações e comorbilidades na DRC (adaptado de Polzin, 2017)	13
Tabela 2 - Estadiamento e sub-estadiamento da DRC felina, segundo a IRIS (adaptado de IDEXX, 2016).....	15
Tabela 3 - Marcadores de lesão renal (adaptado de Polzin, 2017).....	16
Tabela 4 - Vantagens e desvantagens de protocolo quimioterápico único e múltiplo (adaptado de Dobson & Lana, 2010)	21
Tabela 5 - Classificação em graus da toxicidade renal associada à administração de quimioterápicos (adaptado de VCOG-CTCAE, 2016)	30
Tabela 6 - Factores de risco para o desenvolvimento de nefrotoxicidade, associados à quimioterapia (adaptado de Perazella e Moeckel, 2010).....	31
Tabela 7 - Descrição geral da ocorrência de azotémia.	45
Tabela 8 - Comparação de valores iniciais e finais de creatinina e ureia séricas.....	47

Lista de abreviaturas

AAFP – *American Association of Feline Practitioners*

AAHA – *American Animal Hospital Association*

ACE – Enzima conversora de angiotensina

ADH – Hormona antidiurética

ADN – Ácido desoxirribonucleico

AINES – Anti-inflamatório não esteróide

ARA – Antagonistas dos receptores da angiotensina II

AUC – Área sobre a curva

BSA – Área de superfície corporal

BUN – concentração sérica de ureia azotada

Ca²⁺ - Ião cálcio divalente

CAPE – Éster fenil-etílico do ácido cafeico

CAT – Catalase

Cl⁻ - Ião cloro

C_{máx} – Pico de concentração plasmática

CO₂ – Dióxido de carbono

COX-2 – Ciclooxygenase 2

DMT – Dose máxima tolerada

DRC – Doença renal crónica

eNOS – Sintase monóxido de azoto endotelial

EPC – Células progenitoras endoteliais

EPI – Equipamentos de protecção individual

EPO – Eritropoetina

EV – Endovenosa

GMC – Células mesangiais glomerulares

GSH – Glutathione

GVEC – Células epiteliais viscerais glomerulares

H⁺ - Ião hidrogénio

H₂O₂ – Peróxido de hidrogénio

HCO₃⁻ - Ião bicarbonato

HEV-FMV – Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa

IECA – Inibidores da enzima convertora de angiotensina

iNOS – Sintase monóxido de azoto induzível

IRA – Insuficiência renal aguda
IRIS – International Renal Interest Society
K⁺ - Ião potássio
LDH – Lactato desidrogenase
MDA – Malondialdeído
Mg²⁺ - Ião magnésio
MGB – Membrana glomerular basal
CEM – Células estromais mesenquimais
MTS – Mediana do tempo de sobrevivência
Na⁺ - Ião sódio
NaCl – Cloreto de sódio
NH₃ – Amoníaco
NH₄⁺ - Ião amónia
NID – Nefrotoxicidade induzida pela doxorrubicina
NO – Monóxido de azoto
O₂ – Oxigénio
O₂⁻ – Super-óxido
OH[·] – Radical hidroxilo
PAS – Pressão arterial sistémica
PGE₂ – Prostaglandina E₂
PGI₂ – Prostaciclina
PNA – Péptido natriurético atrial
PO₄³⁻ – Ião fosfato
PRA – Actividade da renina plasmática
PTH – Paratormona
PU/PD – Poliúria e polidipsia
RLOs – Radicais livres de oxigénio
RPCU – Rácio proteína/creatinina urinário
SDMA – Biomarcador dimetilarginina simétrica
SOD – Superóxido dismutase
SRAA – Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona
TA – Tempo até azotémia
TAC – Tomografia Axial Computarizada
TFG – Taxa de filtração glomerular

TFG-β1 – Factor de transformação do crescimento β1

LMR – Limite máximo de referência

DUE – Densidade urinária específica

VCOG – *Veterinary and Comparative Oncology Group*

VCOG-CTCAE – *Veterinary cooperative oncology group – common terminology criteria for adverse events*

I. DESCRIÇÃO DE ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR

O estágio curricular da estudante decorreu no período compreendido entre 18 de Setembro de 2017 a 18 de Março de 2018, e teve lugar no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV). Foi seguido um horário formulado pelo coordenador de estágios curriculares do HEV-FMV, Dr. Gonçalo Vicente, composto pela base fixa de 8 horas diárias, excluindo fins de semana, turnos de internamento diurno e nocturno (excepto se a estudante estivesse inserida na rotação de fim de semana e/ou internamento). No total, foram realizadas 1 164 horas de estágio.

Medicina Geral: O estágio teve início no departamento de Medicina Geral, sob tutela dos médicos veterinários assistentes e enfermeiros/auxiliares veterinários. Com um total de 280 horas de Medicina Geral, sendo que se acrescentam 144 horas de serviço no Internamento Diurno e 108 horas no Internamento Nocturno, cada turno equivalente a 12 horas.

No departamento de Medicina geral a estudante teve a oportunidade de, inicialmente, assistir a consultas de rotina, como consultas de primeira opinião e de seguimento, de diversas áreas, incluindo: vacinação, desparasitação, afecções do foro gastrointestinal, renal, cardiovascular, endócrino, respiratório, músculo-esquelético, neurológico, entre outros. Posteriormente, foi dada a possibilidade de ser a própria a iniciar as consultas, com o respectivo seguimento pelo médico veterinário responsável. Foram assim desenvolvidas capacidades de comunicação com os tutores e capacidade de construção de pensamento clínico. Em todas as consultas, foram realizados exames de estado geral, através da avaliação clínica do paciente, e diversos procedimentos clínicos como contenção de animais, colheita de sangue, de urina (cistocentese, algaliação, colheita livre), entre outras amostras biológicas, necessárias à realização de métodos auxiliares de diagnóstico. Ainda neste âmbito de consulta, foram discutidas opções terapêuticas, desenvolvendo o raciocínio crítico da estudante, e dando a possibilidade de maior familiarização com fármacos e a sua utilização terapêutica, tal como a prescrição dos mesmos e a sua administração. Já nos casos necessitados de uma intervenção médica mais intensa, como internamento ou mesmo situações de emergência, a estudante assistiu, auxiliou e/ou realizou: vários procedimentos como colocação de catéteres endovenosos, preparação de sistemas de fluidoterapia, medicações de urgência, algaliações, entubação endotraqueal, trocaterização gástrica, drenagem pleural e/ou abdominal, ressuscitação cardiopulmonar, entre outros. Em relação ao serviço de Internamento geral, foram realizadas intervenções tais como as descritas acima, tal como a monitorização bidual dos pacientes e a preparação de medicações e a sua administração. Ainda no âmbito de medicina geral, a estudante assistiu a consultas de enfermagem, desenvolvendo técnicas de

realização de pensos, contenção de animais, administrações terapêuticas e de recolha de amostras biológicas (sangue, urina, entre outros).

Unidade de Isolamento para Doenças Infecto-Contagiosas (UIDI): No total a estudante realizou 25 horas na UIDI, sob orientação da Professora Solange Gil, num regime de internamento isolado, destinado aos pacientes passíveis de transmitir doenças infecto-contagiosas. Nesta área, a estudante familiarizou-se com os procedimentos higiene e segurança e com os equipamentos de protecção individual (EPI). Foram realizados os mesmos procedimentos médicos realizados no âmbito de medicina geral e internamento.

Dermatologia: A estudante realizou 80 horas no serviço de Dermatologia, sob orientação do Dr. Hugo Pereira, onde, para além da consulta de medicina geral, se utilizaram meios de diagnóstico específicos da área como por exemplo, citologias cutâneas e auriculares, biópsias de pele, lâmpada de wood e videoscopias. Para além dos meios de diagnóstico, foram discutidas estratégias terapêuticas e medidas de controlo das mais variadas afecções dermatológicas.

Cirurgia: No serviço da área de Cirurgia de animais de companhia, incluindo cão, gato, e exóticos, perfizeram-se um total de 200 horas, não se incluindo as horas de cirurgias de emergência realizadas em contexto extraordinário. No serviço, apresentaram-se diversos tipos de intervenção, como por exemplo cirurgia de tecidos moles, ortopedia, pequenas cirurgias, maxilo-faciais, estomatologia, entre outras. A estudante actuou como circulante, ajudante de cirurgia ou anestesista. A rotação diária iniciava-se com a recepção do animais e a sua preparação pré-cirúrgica (cateterização, pré-medicação), seguindo-se a sua indução anestésica fixa em conjunto com fluidoterapia, entubação endotraqueal com manutenção anestésica volátil e tricotomia com lavagem e desinfecção, para posterior intervenção. No papel de anestesista a estudante desenvolveu as técnicas de monitorização do paciente anestesiado, intervencionando activamente na manutenção e regulação da anestesia. No papel de ajudante de cirurgião, a estudante auxiliou o cirurgião no procedimento enquanto aprendia simultaneamente a técnica utilizada, tendo ainda a oportunidade de desenvolver diferentes técnicas de sutura. Após as intervenções, realizou-se a monitorização pós-cirúrgica dos animais, incluindo realização de penso, administração de fármacos, extubação, notas de altas, e posteriormente assistiu-se a consultas de seguimento pós-cirúrgico.

Radiologia: No serviço de radiologia, incluindo o serviço de Tomografia Axial Computarizada (TAC) e Radiografia, foram realizadas um total de 120 horas. A estudante continuou assim a desenvolver a sua técnica de anestesiológista no serviço de TAC e radiografia, quando necessário. Desenvolveu ainda capacidades de interpretação de imagens obtidas através de TAC e radiografia, e ao serviço deste último, familiarizou-se com os EPI necessários.

Medicina Interna: Num total de 80 horas, a estudante encontrou-se sob orientação do Professor Rodolfo Leal, no serviço de Medicina interna, discutindo os casos clínicos e assistindo às consultas por ele realizadas. Nestas incluem-se casos na área de endocrinologia, nefrologia, gastroenterologia, sistema respiratório, imunologia, endoscopia, entre outros. Tal como ao serviço de outras áreas, foram discutidas etiologias, sintomatologias, diagnósticos diferenciais, métodos de diagnóstico, manejo clínico e alternativas terapêuticas.

Oftalmologia: No serviço de oftalmologia realizaram-se 40 horas no total sobre orientação da Professora Esmeralda Delgado, incluindo consultas e cirurgias, tal como métodos de diagnóstico específicos como por exemplo: observar os reflexos dos pares craneais, o teste de Schirmer, o teste de fluoresceína, a medição de pressão intraocular, electrorretinografias, oftalmoscopia directa e indirecta, entre outros.

Oncologia: No serviço de oncologia, sob a orientação do Dr. Gonçalo Vicente, foram realizadas um total 32 horas, que incluiu a recepção dos animais, realização de análises pré-sessão de quimioterapia, preparação dos animais, como a cateterização. De seguida, foram realizadas os cálculos matemáticos para a preparação dos quimioterápicos na área destinada. A estudante ainda se familiarizou com os EPI e normas de segurança na preparação dos quimioterápicos, e de seguida realizou-se a administração dos mesmos. Ainda se assistiu a consultas de Oncologia, contabilizadas no horário de Medicina Geral.

Ecografia: No último serviço estipulado, Ecografia, foram realizadas 80 horas no total, sob tutela da Dra. Joana Pontes, onde a estudante assistiu a ecografias abdominais, oculares, cardíacas, pulmonares, e escrotais. A estudante desenvolveu as técnicas ecográficas de identificação de órgãos, assistiu a técnicas de centese, por exemplo: cistocentese (realizadas pela estudante), abdominocentese, toracocentese e pericardiocentese. No serviço, também se discutiram diagnósticos diferenciais, e possíveis abordagens às irregularidades observadas.

Terminado o estágio curricular em Março de 2018, a estudante desenvolveu capacidades de comunicação, pensamento crítico e clínico, actuação rápida e destreza técnica. Tendo um feedback positivo da equipa docente sobre o seu desempenho.

Em anexo, encontra-se o trabalho em forma de painel, apresentado no Congresso do *Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health* (CIISA), realizado a 16 e 17 de Novembro de 2018, na Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa.

II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Introdução

O sistema renal desempenha diversas funções, tendo como objectivo manter a homeostasia do organismo, o que acontece através da excreção de produtos metabólicos e da reabsorção de substâncias necessárias a esta, regulando assim os níveis de electrólitos, de água, solutos e proteínas de baixo peso molecular (McGeady, Quinn, FitzPatrick, Ryan, & Cahalan, 2017). Para além destas, ainda possui uma componente hormonal que actua na regulação da pressão sanguínea sistémica e na produção de eritrócitos. Em mamíferos, ambos os rins recebem aproximadamente 25% do débito cardíaco (Verlander, 2013), o que os expõe a inúmeras substâncias endógenas e exógenas, existindo um maior risco de desenvolvimento de lesão, que tem como possível consequência a doença renal crónica (DRC), uma doença silenciosa que se pode manter assintomática até atingir um estado avançado. Esta doença é caracterizada por uma perda progressiva e irreversível da função renal causada por perda da arquitectura renal e de nefrónios individuais. A disfunção renal pode traduzir-se numa capacidade de filtração reduzida, com consequente aumento da ureia e creatinina séricas, entre outras alterações (Yerramilli, Farace, Quinn, & Yerramilli, 2016).

A doxorubicina é uma antraciclina, com actividade anti-tumoral, utilizada na terapêutica de diversas neoplasias e é uma das substâncias exógenas com efeitos negativos sobre o tecido renal, já estudados no Homem, cães e gatos (O'Keefe, Sisson, Gelberg, Schaeffer, & Krawiec, 1993). Enquanto quimioterápico, a doxorubicina atinge tanto células normais como tumorais, acumulando-se em tecidos saudáveis, como os rins, o coração, e a medula óssea. O seu efeito citotóxico ocorre por intercalação com o ácido desoxirribonucleico (ADN) e inibição de enzimas que provocam a quebra das suas cadeias para duplicação. No entanto, os seus efeitos nefrotóxicos ainda são alvo de estudo nos dias de hoje, apesar da formação de radicais livres de oxigénio (RLOs) ser sugerida como um dos principais mecanismos nefrotóxicos. A formação de RLOs induz a peroxidação de lípidos, a lesão oxidativa nas células renais, um aumento da permeabilidade dos capilares glomerulares e atrofia tubular (El-Sayed, Mansour, & El-Sawy, 2017). A nefrotoxicidade induzida pela doxorubicina (NID) é um tema estudado principalmente no modelo murino, considerado universal para o estudo da DRC no Homem. Infelizmente, existem poucos estudos sobre a NID em gatos, apesar de alguns autores sugerirem a administração da doxorubicina nestes como responsável pelo desenvolvimento de DRC (Cotter, Kanki, & Simon, 1985; Mauldin, Matus, Patnaik, Bond, & Mooney, 1988; Novosad et al., 2006; O'Keefe et al., 1993; Poirier et al., 2002; Reiman, Mauldin, & Mauldin, 2008). Com esta hipótese colocada, surgiu a ideia da realização do presente estudo, para caracterização da função renal da amostra populacional felina do HE-FMV, submetida à administração de doxorubicina.

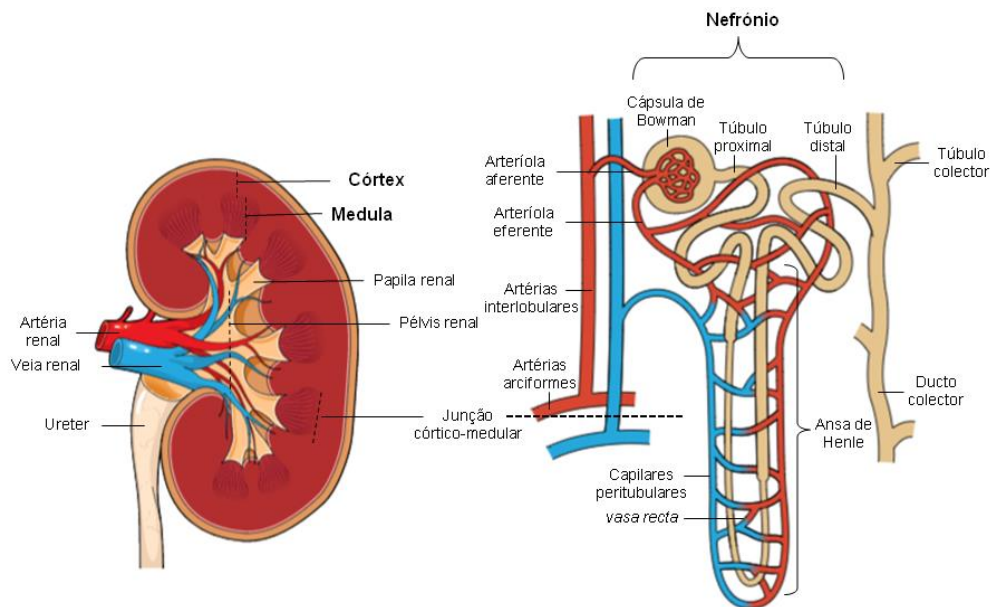
2. O sistema renal e a resposta à lesão

2.1. Breves noções embriológicas e anatómicas do rim

O sistema urogenital divide-se funcionalmente em sistema genital e urinário, no entanto, em termos anatómicos e embriológicos, encontram-se interligados. Ambos se desenvolvem a partir da mesoderme intermédia (com excepção do epitélio de revestimento da bexiga e uretra, que provêm da endoderme) (Sadler, 2015), que é a responsável pelo desenvolvimento dos nefrónios, a unidade funcional do rim (McGeady et al., 2017).

Os rins são órgãos pares, distribuídos bilateralmente na cavidade retroperitoneal, encostados à parede abdominal dorsal, numa posição lombar, no entanto, a sua zona cranial encontra-se na projecção das últimas costelas (König, Maierl, & Liebich, 2004). No gato, os rins têm forma de feijão e o rim direito migra mais cranialmente, contactando com os lobos caudal e direito do fígado, e são do tipo unilobar com uma única papila renal, protegidos por uma cápsula fibrosa (König et al., 2004; McGeady et al., 2017). Num corte sagital (figura 1), é evidente a divisão do órgão numa zona medular (dividida numa zona exterior mais escura e uma interior mais clara, com estrias radiais) e numa zona cortical (cor castanha-avermelhada com aparência granulosa, delineada por artérias radiais em lóbulos corticais) (König et al., 2004).

Figura 1 - Anatomia renal e do nefrónio (original da autora)



O número de nefrónios nos animais domésticos varia, existindo cerca de 500 000 nefrónios no gato, que são suportados por tecido conjuntivo, tal como a vasculatura renal (König et al., 2004). Existem 2 tipos de nefrónios: nefrónios corticais, localizados maioritariamente no córtex, e os nefrónios justaglomerulares, mais próximos da medula e com ansas de Henle mais compridas (responsáveis pelo aspecto estriado da medula) (Mescher, 2016). Cada nefrónio ou unidade funcional do rim (figura 1) é, anatomicamente, composto por uma cápsula

glomerular ou cápsula de Bowman (com camada parietal e visceral), invaginada por um plexo de capilares que formam o glomérulo (30 a 50 ansas capilares). A camada parietal compõe a superfície capsular, enquanto que a camada visceral da cápsula é composta por podócitos, que juntamente com o endotélio capilar fenestrado, formam a barreira urina-sangue (König et al., 2004). Da fusão das lâminas basais dos podócitos e endotélio capilar fenestrado, resulta uma membrana de maior espessura – a membrana glomerular basal (MGB), essencial à filtração (Mescher, 2016; Verlander, 2013). O espaço entre a camada visceral e parietal designa-se por urina primária, ultrafiltrado ou espaço de Bowman. O conjunto do glomérulo com a cápsula de Bowman designa-se por corpúsculo renal ou corpúsculo de Malpighi (responsáveis pelo aspecto granuloso do córtex). Para além dos podócitos e endotélio capilar, o glomérulo contém ainda as células mesangiais, com capacidades de contracção (Mescher, 2016).

O restante nefrónio é composto por um túbulo contínuo dividido em diferentes segmentos: (a) o túbulo contornado proximal, com origem na cápsula de Bowman, localizado no córtex; (b) a ansa de Henle, com uma porção fina descendente e uma porção fina ascendente, localizada na medula; (c) e um túbulo distal, composto por uma porção espessa ascendente originária da ansa de Henle ascendente em direcção ao córtex, e uma porção contornada inteiramente no córtex. Por fim, um túbulo colector, que interliga o nefrónio com um ducto colector, assim designado quando dá entrada na medula (Mescher, 2016).

Na junção do glomérulo com o túbulo distal existem células de características únicas, que formam o aparelho justaglomerular. No túbulo distal, as células são denominadas por mácula densa, enquanto que entre as arteríolas aferente e eferente denominam-se por células justaglomerulares, responsáveis pela libertação de renina (Reece & Rowe, 2018).

No hilo renal, ocorre a saída e entrada da vasculatura renal (figura 1), sanguínea e linfática, dos nervos (responsáveis pela inervação adrenérgica da vasculatura renal, aparelho justaglomerular e nefrónio) e onde se encontra a inserção do ureter. Após a inserção deste, há uma evidente expansão do ureter dentro do rim, zona designada por pélvis renal, responsável pela colheita de urina após descarga dos ductos colectores (Reece & Rowe, 2018). Na zona do hilo, a artéria renal, proveniente da aorta, divide-se em várias artérias interlobares, até à junção cortico-medular, onde se dividem em artérias arciformes, que circunvalam a base das pirâmides medulares, passando a designar-se por artérias interlobulares, que irradiam até ao córtex renal. Quando entram na zona do corpúsculo renal designam-se por arteríolas aferentes, formando as ansas capilares dos glomérulos. Ao saírem do corpúsculo, passam a arteríolas eferentes que irão compor o plexo capilar (capilares peritubulares, que envolvem os túbulos dos nefrónios) que irá drenar para veias interlobulares, veias arciformes, veias interlobares, veia renal e finalmente, veia cava caudal. Nos nefrónios

justaglomerulares, os capilares peritubulares subdividem-se em pequenos vasos que acompanham as longas ansas de Henle, chamados *vasa recta*. A vascularização capsular ocorre pelas artérias interlobulares. No entanto, no gato a drenagem é diferente, pois ocorre directamente para a veia renal, no hilo, e não para as veias interlobulares (König et al., 2004).

2.2. Fisiologia renal

A função renal envolve diversas funções, como (a) a filtração glomerular, através da qual a água e solutos se deslocam do espaço vascular para o lúmen do nefrónio; (b) a secreção tubular, com passagem de substâncias das células epiteliais dos túbulos para o lúmen do nefrónio; e (c) a reabsorção tubular, que é o processo inverso à secreção (Mescher, 2016). É através destes mecanismos que ocorrem as regulações electrolítica, hídrica e ácido-base necessárias à homeostasia. Os rins exercem ainda efeito sobre a regulação hormonal da pressão sanguínea sistémica, a produção de eritrócitos e a homeostasia do cálcio (Verlander, 2013).

2.2.1. Filtração glomerular

A filtração sanguínea que ocorre no glomérulo origina o filtrado glomerular, que depende da taxa de filtração glomerular (TFG). A TFG é determinada pelas forças de Starling (diferença entre as forças a favor e que se opõem à filtração), pela permeabilidade da barreira de filtração e pela área disponível para que ocorra esta filtração (Verlander, 2013). As forças em prol da filtração são a pressão hidrostática sanguínea e a baixa pressão oncótica do ultrafiltrado. Já a permeabilidade da barreira de filtração depende de 3 factores: (a) o factor dimensão, uma vez que as células sanguíneas e proteínas de dimensão maior ou igual à albumina ficam retidas no lúmen capilar, havendo apenas filtração de água e outros solutos; (b) o factor da carga eléctrica, uma vez que a MGB tem carga negativa, o que repele substâncias aniónicas (carga negativa) e atrai substâncias catiónicas (carga positiva); e (c) o factor da forma e deformabilidade das moléculas (Verlander, 2013).

A TFG, expressa em volume de filtrado glomerular por tempo, por massa de peso vivo (mL/min/kg), é uma ferramenta clínica útil (Verlander, 2013) e é estimada pelo estudo da taxa de eliminação (*clearance*) de uma substância plasmática, que não é reabsorvida nem secretada, sendo livremente filtrada, como por exemplo o iohexol, a inulina, a creatinina endógena ou exógena (Reece & Rowe, 2018). No entanto, na prática clínica é mais comum a quantificação de um marcador plasmático como a creatinina endógena ou ureia. A creatinina é a mais comumente usada para este efeito. No entanto, é importante relembrar que uma pequena elevação do nível sérico desta proteína está correlacionada com uma grande redução na TFG, e um nível normal de creatinina não reflecte uma função renal normal (Verlander, 2013).

Os rins possuem a capacidade de manter a TFG dentro de valores fisiológicos, contrariando alterações de pressão sanguínea sistémica e de fluxo sanguíneo renal, pela sua modulação através de factores intrínsecos (auto-regulação) e factores sistémicos (Reece & Rowe, 2018; Verlander, 2013). Os factores intrínsecos, responsáveis por estabilizar a perfusão capilar glomerular através do controlo das arteríolas aferentes e eferentes, identificam-se como (a) o reflexo miogénico, despoletado por uma alteração da perfusão glomerular e influenciado por mediadores químicos como o monóxido de azoto (NO), (b) o feedback tubuloglomerular, despoletado por alterações da concentração de cloreto de sódio (NaCl) sentidas na mácula densa, e (c) o próprio endotélio, que produz substâncias vasodilatadoras (NO, prostaglandina E_2 (PGE_2) e a prostaciclina (PGI_2)), e vasoconstritoras (endotelina, tromboxano A_2 e angiotensina II). Os factores sistémicos, ou factores humorais, consistem num conjunto de hormonas como a angiotensina II, a aldosterona, a vasopressina ou hormona antidiurética (ADH), o péptido natriurético atrial (PNA), e as catecolaminas. O principal factor humoral é o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (Verlander, 2013). Este sistema é activado quando há uma diminuição da concentração de NaCl sentida na mácula densa, muitas vezes devido a hipotensão sistémica, com diminuição da perfusão renal, o que estimula a libertação de renina pelas células justaglomerulares, nas arteríolas adjacentes. A renina converte o angiotensinogénio plasmático em angiotensina I, que por sua vez será convertida em angiotensina II pela enzima conversora de angiotensina (ACE). A ACE existe maioritariamente nos pulmões, no entanto também se encontra no endotélio renal e outros órgãos. A angiotensina II é responsável pela contracção da arteríola eferente (Reece & Rowe, 2018) e estimula a absorção de sódio nos túbulos proximais, túbulos contornados distais e ductos colectores, a libertação de aldosterona pelas glândulas adrenais e a libertação de ADH pela pituitária. Este conjunto de acções aumenta a pressão sanguínea sistémica e a perfusão renal, o que actua como um sistema de feedback negativo já que inibe a libertação de renina (Verlander, 2013).

2.2.2. Reabsorção e secreção tubular

O ultrafiltrado, formado no glomérulo, contém aproximadamente a mesma concentração de sais e glucose que o plasma, e é através da reabsorção tubular eficiente que 100% da glucose e 99% da água e iões sódio (Na^+) filtrados são reabsorvidos, de modo a manter a homeostasia (Verlander, 2013).

Segundo Verlander (2013), no túbulo proximal é reabsorvido até 60% do ultrafiltrado, o que é facilitado pela sua estrutura histológica (abundantes mitocôndrias, pregas basolaterais e endotélio com bordadura em escova), pelas forças de Starling e pela sua estrutura anatómica, próxima dos capilares peritubulares. Assim, no túbulo proximal há reabsorção de cerca de 65% de água, de Na^+ , iões cloro (Cl^-), iões cálcio (Ca^{2+}), e iões bicarbonato (HCO_3^-), e cerca

de 100% de glucose e aminoácidos, previamente filtrados (Reece & Rowe, 2018). Outras substâncias como o ião potássio (K^+), péptidos e proteínas de baixo peso molecular, hormonas como a insulina, glucagon e paratormona (PTH), e os iões fosfato (PO_4^{3-}), são também reabsorvidas no túbulo proximal (Verlander, 2013). A reabsorção de substâncias para o fluído intersticial aumenta a pressão oncótica deste, o que provoca a osmose da água a partir do lúmen tubular. Esta absorção de água aumenta a concentração de difusão de substâncias, como a ureia (Reece & Rowe, 2018).

O túbulo proximal tem um papel crucial da secreção de produtos endógenos (sais biliares, oxalatos, uratos, creatinina, prostaglandinas e epinefrina) e fármacos ou toxinas exógenas (antibióticos, diuréticos, compostos anti-virais, e analgésicos), uma vez que a maioria não é filtrada no glomérulo por estarem ligadas a proteínas plasmáticas (Verlander, 2013).

A porção fina da Ansa de Henle descendente permite a absorção passiva de água, ureia e solutos, enquanto a porção fina ascendente apenas permite o transporte passivo de solutos. Já na porção ascendente espessa da ansa de Henle e no túbulo contornado distal, reaparece a estrutura histológica com capacidade para um transporte activo de substâncias em grande escala. Aqui ocorre absorção de Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} e ião magnésio (Mg^{2+}), contra um gradiente elevado. Quando o filtrado abandona esta zona, mais de 90% dos sais foram absorvidos, diminuindo-se a osmolalidade do fluído (Verlander, 2013). Estas duas porções são impermeáveis à absorção de água, diluindo o fluído tubular e permitindo a manutenção da hipertonicidade do interstício medular, que é necessário ao mecanismo de concentração da urina (Verlander, 2013).

O ducto colector surge após a junção de vários túbulos colectores provenientes de vários nefrónios. Nos vários ductos colectores, ocorre a reabsorção activa de Na^+ , a absorção de Cl^- , e também a reabsorção por transporte activo do K^+ , quando este tem restrições alimentares. A reabsorção de Na^+ é regulada ainda por outras hormonas como a ADH, o NO, a endotelina e o PNA. O ducto colector tem ainda a função de controlar a secreção de K^+ e do ião hidrogénio (H^+) (Verlander, 2013).

O ducto colector é susceptível à acção da ADH e da aldosterona, mineralocorticóide libertado pelas adrenais. Quando há desidratação ou hipotensão, a ADH é libertada pela pituitária, e actua no ducto colector, reduzindo a sua relativa impermeabilidade à água e permitindo a absorção devido ao gradiente hiperosmótico da medula. A libertação de aldosterona, é estimulada pelo SRAA em caso de hipotensão sistémica, ou pela hipercaliémia. Este mineralocorticóide actua nos túbulos colectores e ductos colectores, promovendo a absorção de Na^+ e excreção de K^+ , intensificando a osmose e aumentando o volume sanguíneo (Verlander, 2013).

2.2.3. Balanço hídrico

Para manter a homeostasia, o rim tem a capacidade de reter água no organismo e manter a tonicidade plasmática. O rim consegue concentrar ou diluir a urina através de 3 mecanismos principais: (a) manutenção de um interstício medular hipertónico, que permite concentrar a urina, (b) a diluição do fluído tubular pela porção espessa ascendente da ansa de Henle e túbulo contornado distal, impermeáveis à água, e (c) a permeabilidade variável do ducto colector consoante a presença ou ausência de ADH (Verlander, 2013).

Os nefrónios justaglomerulares têm a capacidade de concentrar urina, devido às porções finas, descendentes e ascendentes, das ansas compridas de Henle, características destes nefrónios. Estas porções possuem transportadores específicos da ureia e água. A porção espessa ascendente e o túbulo contornado distal são impermeáveis à água, e mantêm um transporte activo de NaCl, o que favore a hipertonicidade do interstício medular (Verlander, 2013). Apesar do transporte activo de NaCl contribuir eficazmente para a hipertonicidade medular, é o sistema de reciclagem de ureia que tem o maior contributo para a mesma. Apenas as porções finas das ansas de Henle e a porção terminal do ducto colector, situada no centro medular, são permeáveis à ureia. Quando é necessário manter um estado de conservação hídrico, a ADH, para além de aumentar a permeabilidade do ducto colector à absorção de água, aumenta igualmente a permeabilidade à ureia, o que reforça o gradiente osmótico. Esta ureia é então reciclada ao ser reabsorvida para o lúmen tubular nas porções finas da ansa de Henle (Verlander, 2013).

Para além da reciclagem de ureia e transporte activo de NaCl, existem mais 2 mecanismos responsáveis pela manutenção da osmolalidade crescente, máxima na medula interior, do fluído intersticial medular, (a) o mecanismo contra-corrente multiplicador, que ocorre nas ansas de Henle, por alterações da concentração de NaCl tubular, e o (b) mecanismo contra-corrente permutador, que ocorre nos *vasa recta* apenas sob forma de transporte passivo, sendo estes permeáveis à água, NaCl e ureia, entre outros solutos (Reece & Rowe, 2018).

Assim, é nos segmentos finais do nefrónios e ducto colector que se determina se a urina é diluída ou concentrada, pelo transporte activo de NaCl e impermeabilidade à água e pela acção da ADH, respectivamente.

2.2.4. Balanço ácido-base

O pH normal do sangue é de 7,4 e para que este seja constante o equilíbrio ácido-base tem que ser mantido, o que ocorre a 3 níveis: através de (a) tampões químicos, intracelulares ou extracelulares (hemoglobina, carbonato ósseo, PO_4^{3-} e HCO_3^-), (b) regulação respiratória ao diminuir a concentração de dióxido de carbono (CO_2) sanguíneo e (c) excreção de H^+ ou HCO_3^- pelos rins (Reece & Rowe, 2018). Os tampões químicos e a regulação respiratória têm

uma acção rápida sobre o pH sanguíneo ao estabilizarem-no, no entanto são os rins os principais responsáveis pela excreção de H^+ e reabsorção de HCO_3^- , principalmente no túbulo proximal, na porção ascendente espessa e no ducto colector (Verlander, 2013).

É necessário que ocorra a tamponização do fluido tubular para que ocorra a excreção eficiente do H^+ . Os principais tampões são o HCO_3^- , o PO_4^{3-} , e o amoníaco (NH_3). O metabolismo do NH_3 é um dos grandes mecanismos pelo qual o H^+ é excretado. Este reage com o NH_3 , originando o ião amónia (NH_4^+), o que diminui a concentração de H^+ e NH_3 , favorecendo o gradiente destes para o túbulo e reduzindo o gradiente electroquímico do H^+ , criado pela secreção activa deste no ducto colector (Verlander, 2013).

Mas é o ducto colector que determina o pH final da urina, pois o túbulo proximal mantém a função de excreção e reabsorção independentemente da concentração plasmática. Quando existe alcalose, há estimulação no ducto colector para que ocorra secreção de HCO_3^- , e quando existe acidose há supressão dessa secreção (Verlander, 2013).

2.3. Nefrotoxicidade

Os rins recebem cerca de 25% do débito cardíaco, expondo-os a níveis relativamente elevados de tóxicos presentes na circulação sistémica. No entanto, também são expostos a tóxicos activados através da metabolização de xenobióticos no epitélio tubular renal, por sistemas de enzimas, ou expostos a uma maior concentração de tóxicos devido ao processo de concentração de urina. A sensibilidade renal à lesão pode ainda ser aumentada por substâncias circulantes vasoactivas, como a angiotensina II ou a vasopressina (Gwaltney-Brant, 2012). Assim, a nefrotoxicidade é um efeito secundário de diversas classes de fármacos, como os antibióticos, os inibidores da enzima convertora de angiotensina (IECA), os antagonistas dos receptores da angiotensina II (ARA), os analgésicos, os anti-inflamatórios não esteróides (AINE), os meios de radiocontraste, e por fim, dos compostos quimioterápicos (Schnellmann, 2013). Os mecanismos de lesão nefrotóxica ocorrem através de lesão glomerular, de lesão tubular directa, de lesão vascular renal, da inflamação intra-renal e do atraso na reparação tubular (Gwaltney-Brant, 2012; Schnellmann, 2013).

2.3.1. Padrões de lesão renal

A lesão causada pelas substâncias nefrotóxicas pode ter lugar em segmentos específicos do nefrónio. O glomérulo, o primeiro segmento exposto a nefrotóxicos, pode ter a sua permeabilidade por tamanho e carga afectada, com alteração de selectividade e presença de proteinúria. Por exemplo, a doxorrubicina actua nas células epiteliais glomerulares, resultando nestas alterações. Ainda, a lesão glomerular pode ser mediada por vasoconstrição renal, ou por factores extra-renais como imunocomplexos circulantes, activação do sistema de

complemento ou atracção de neutrófilos e fagocitose. Os neutrófilos e macrófagos são comumente observados na presença de glomerulonefrite, tal como a libertação de citocinas e RLOs que contribuem para o desenvolvimento de lesão glomerular (Schnellmann, 2013).

O túbulo proximal é o segmento mais comumente afectado por substâncias nefrotóxicas, devido à acumulação selectiva das mesmas, permitida pelas características anatómicas do seu epitélio, que favorecem o fluxo de compostos através deste. Os principais mecanismos de lesão neste segmento ocorrem através da activação metabólica de xenobióticos e na lesão directa do epitélio tubular (Schnellmann, 2013).

A ansa de Henle, o túbulo distal e o ducto colector podem ser afectados, apesar de em menor escala quando comparados com segmentos mais proximais, e a manifestação de lesão passa principalmente pela incapacidade de concentração ou acidificação da urina (Schnellmann, 2013).

2.4. Resposta fisiopatológica do rim

A lesão nefrotóxica pode manifestar-se pelo desenvolvimento de insuficiência renal aguda (IRA), pela adaptação após estímulo nefrotóxico, ou pelo desenvolvimento de DRC. A IRA, a manifestação mais comum de lesão nefrotóxica, é definida como uma diminuição abrupta da função renal, com retenção de compostos azotados. A diminuição da TFG que ocorre, pode ter causas pré-renais, renais ou pós-renais. Já a adaptação renal após o estímulo nefrotóxico passa por diferentes respostas celulares e moleculares, em que as células epiteliais tubulares gravemente lesionadas podem sofrer apoptose, as células epiteliais tubulares moderadamente lesionadas podem sofrer adaptação e/ou reparação, e em que as células epiteliais tubulares não lesionadas podem sofrer hipertrofia, adaptação e/ou proliferação compensatória. Estes são mecanismos compensatórios que mascaram a alteração de função renal inicialmente (Gwaltney-Brant, 2012; Schnellmann, 2013).

2.4.1. Doença renal crónica (DRC)

Acredita-se que o desenvolvimento de DRC enquanto resposta fisiopatológica não é dependente apenas de um estímulo primário mas também de processos fisiopatológicos secundários despoletados pelo estímulo inicial (Schnellmann, 2013). A DRC é a afecção mais comum de doença renal em cães e gatos, sendo definida como uma alteração funcional e/ou estrutural num rim ou em ambos, presente continuamente por um período de 3 ou mais meses (Polzin, 2017). Os factores associados a esta alteração progressiva incluem a hipertensão sistémica ou glomerular, o SRAA, a alteração estrutural de podócitos, a dislipidémia, a proteinúria, o stress oxidativo, a hipóxia e a hiperfosfatémia (Jepson, 2016; Yerramilli et al., 2016).

A DRC é irreversível e progressiva, fruto de uma característica própria denominada “progressão espontânea da DRC”, consequência de mecanismos compensatórios e adaptivos do rim após uma agressão inicial. Apesar de ser possível reverter a agressão inicial, como por exemplo a desidratação, uma pielonefrite ou uma obstrução pós-renal, estes mecanismos continuam activos levando a um declínio progressivo da função renal. No entanto, este padrão progressivo pode não estar presente em todos os gatos, visto haver uma percentagem deles que se consegue manter estável durante meses ou anos. Apesar do carácter progressivo, a DRC não prescinde de suporte terapêutico (Polzin, 2017). Num estudo realizado por Marino et al. (2014), a prevalência de DRC em gatos aleatoriamente seleccionados é de 50%, incluindo os de estadio 1, 2 e 3. Este aumento de prevalência em relação a estudos anteriores, verificou-se em gatos com idade até 15 anos, sendo que em gatos com 15 anos ou superior, a prevalência é de 80%.

2.4.1.1. Consequências clínicas

O estímulo iatrogénico acontece normalmente após o desenvolvimento do síndrome urémico ou outras complicações (tabela 1). Os sinais clínicos mais notados pelos donos incluem a poliúria e polidipsia (PU/PD), no entanto são os sinais gastrointestinais (anorexia, náusea, vômito, ulceração oral, estomatite, halitose urémica, diarreia, melena e hematoquécia) os mais proeminentes na urémia. Para além destes ainda ocorrem sinais como a perda de peso com perda de massa muscular, hipotermia, letargia, fraqueza, tremores musculares, pericardite urémica e pneumonite, hipertensão e alteração de comportamento, osteodistrofia renal, e diáteses hemorrágicas (Polzin, 2017).

Tabela 1 - Complicações e comorbilidades na DRC (adaptado de Polzin, 2017)

Complicações da DRC	Comorbilidades
Anemia	Doença cardíaca
Hipertensão arterial	Doença degenerativa articular
Desidratação	Doença oral e dental
Hiperparatiroidismo	Hipertiroidismo
Hiperfosfatémia	Nefrólitos e urólitos
Hipo- ou Hipercalemiemia	Infecções do tracto urinário
Hipocaliémia	
Subnutrição	
Acidose metabólica	
Síndrome urémica	

Com a perda de nefrónios funcionais, a TFG diminui, o que aumenta substancialmente a quantidade de água e electrólitos excretados por nefrónio, através de mecanismos de

compensação. Se esta função ficar comprometida podem advir complicações como a ocorrência de edemas, hipertensão, hipercaliémias, hiponatrérias, acidose metabólica e hiperfosfatémias (tabela 1). Ao contrário da água e electrólitos que podem ser secretados pelos nefrónios, e como tal, mais facilmente regulados, os solutos orgânicos são maioritariamente excretados por filtração glomerular, e como tal a sua concentração sanguínea tem uma relação directamente proporcional à diminuição da TFG, contribuindo para o desenvolvimento do síndrome urémico. O catabolismo renal de substâncias como as hormonas também se encontra diminuído em casos de DRC, pelo que hormonas como a PTH, insulina, glucagon, entre outras, encontram-se aumentadas. Ainda como consequência da DRC está a ineficácia do rim em sintetizar hormonas, como o calcitriol/vitamina D, a eritropoetina (EPO), prostaglandinas e renina, tendo como efeitos secundários principais o desenvolvimentos de anemias não regenerativas e o hiperparatiroidismo secundário renal (Polzin, 2017).

Com excepção de alguns gatos que mantêm inicialmente a capacidade de concentrar urina, na DRC existe uma diminuição da densidade urinária específica (DUE), esta incapacidade ocorre devido ao aumento do número de solutos por nefrónio (incapacidade tubular de reabsorção de Na), diminuição do gradiente hiperosmótico medular e incapacidade de resposta à ADH. Quando o consumo de água diminui, ocorre desidratação, um problema comum em gatos com DRC (Deguchi & Akuzawa, 1997; Polzin, 2017).

Foi observado que em gatos hipertensos, existe um aumento da concentração plasmática de aldosterona com diminuição da actividade da renina plasmática (PRA), sugerindo-as como causa da hipertensão e retenção de sal e água. O que também explica, em parte, a ineficácia de alguns IECAs, em gatos. A hipertensão em cães e gatos é, normalmente, secundário a DRC (Polzin, 2017).

2.4.1.2. Estadiamento

No sentido de categorizar a DRC, foi desenvolvido um sistema de estadiamento pela *International Renal Interest Society* (IRIS), que também é utilizado como guia para a intervenção terapêutica e para estabelecer um prognóstico (Marino et al., 2014). A DRC é estadiada a partir da concentração sanguínea de creatinina, medida mais de uma única vez, e sub-estadiada a partir da medição de proteinúria renal, através do rácio proteína/creatinina urinário (RPCU), após excluir causas pré e pós-renais, e da medição da pressão arterial sistémica (PAS) (International Renal Interest Society, 2016). Mais recentemente, a IRIS actualizou as suas orientações (tabela 2) para o diagnóstico precoce e estadiamento da DRC. Uma vez que a concentração de creatinina pode estar subestimada em animais com baixa condição corporal, foi adicionado o biomarcador dimetilarginina simétrica (SDMA) (IDEXX

SDMA™ Test), que não é influenciado pela massa muscular (IDEXX, 2016). Segundo Marino et al. (2014), devido ao intervalo de referência de vários laboratórios diferirem e a creatinina se encontrar normal, o estadio 1 pode ser identificado pela presença de proteinúria, glucosúria normoglicêmica, isostenúria (1.008-1.012), urina inapropriadamente concentrada (1.013-1.035) ou evidência imagiológica de lesão renal.

Tabela 2 - Estadiamento e sub-estadiamento da DRC felina, segundo a IRIS (adaptado de IDEXX, 2016).

ESTADIAMENTO				
	Estadio 1	Estadio 2	Estadio 3	Estadio 4
	Não azotêmico	Leve	Moderado	Grave
Creatinina (mg/dL)	<1.6	1.6-2.8	2.9-5.0	>5.0
SDMA (µg/dL)	>14	>14	Moderadamente aumentada	Marcadamente aumentada
Considerar próximo estadio baseado na creatinina		≥25	≥45*	
SUB-ESTADIAMENTO				
RPCU	Não proteinúrico <0.2 / <i>Border-line</i> proteinúrico 0.2-0.4 / Proteinúrico >0.4			
PAS (mmHg)	Normotensivo <150 / <i>Border-line</i> hipertensivo 150-159 / Hipertensivo 160-179 / Gravemente hipertensivo ≥180			

2.5. Avaliação da função renal

As alterações funcionais renais são mais frequentemente reconhecidas pela presença de azotemia, ou através de outros marcadores (tabela 3). Enquanto que alterações estruturais podem ser reconhecidos através da palpação física, de métodos imagiológicos ou biópsias renais.

Tabela 3 - Marcadores de lesão renal (adaptado de Polzin, 2017).

Marcadores sanguíneos	Marcadores urinários	Marcadores imagiológicos	Hipertensão Arterial
Azotémia Hiperfosfatémia Hipoalbuminémia Hipo-/Hipercalemiemia Acidose metabólica Hipo-/Hipercalcémia Anemia hiporregenerativa Hipoalbuminémia SDMA	Inadequada concentração ou diluição urinária Proteinúria Cilindrúria Hematúria Piúria pH inadequado Glucose urinária inadequada Cistinúria Bacteriúria	Tamanho renal aumentado ou diminuído Mineralização renal, nefrólitos ou urólitos Forma renal anormal Ausência de um rim Ecotextura renal anormal	Medir PAS Lesões na retina

As alterações nos parâmetros laboratoriais surgem quando nefrônios suficientes estão afectados ou quando os nefrônios saudáveis deixam de conseguir compensar os anteriores. Dois exemplos clássicos destas alterações são a presença de urina diluída (isostenúria) e azotémia. A incapacidade de concentrar urina surge quando 66% dos nefrônios não estão a funcionar correctamente, enquanto que a azotémia surge apenas quando 75% dos nefrônios estão comprometidos. A incapacidade de concentrar urina ocorre com a redução de produção de ADH ou com uma diminuição de resposta a esta, com uma diminuição da hipertonicidade medular, com a sobrehidratação ou com sobrecarga de solutos (Meuten, 2012).

A azotémia é definida como uma concentração, plasmática ou sanguínea, anormal de ureia, creatinina e outros compostos azotados não-proteicos, que pode ter causas pré-renais (como hipovolémia na desidratação ou choque), renais (lesão glomerular, tubular, intersticial, na pélvis renal ou nos vasos sanguíneos) ou pós-renais (obstrução ou ruptura no tracto urinário) (Polzin, 2017). A correlação entre a azotémia e a DUE permite localizar a origem, isto é, a presença de azotémia com urina concentrada, ou hiperestenúrica ($DUE > 1.035$) é indicador de azotémia com origem pré-renal. Já a presença de azotémia com urina isoestenúrica ($DUE = 1.008-1.012$) poderá ser indicador de azotémia com causas renais. Contudo, os valores de DUE devem ser interpretados em conjunto com o estado de hidratação do animal (Meuten, 2012; Polzin, 2017).

Uma diminuição da TFG é o melhor indicador de insuficiência renal, e a creatinina sérica e a ureia azotada sanguínea (BUN) são livremente filtradas pelo glomérulo, sendo assim dois dos melhores marcadores para estimar a TFG, na prática clínica. Contudo, a alteração destes

marcadores ocorre numa fase tardia, em que apenas 25% dos nefrónios se encontram funcionais (Meuten, 2012).

2.5.1. Concentração de creatinina sérica

A concentração de creatinina sérica tem sido o teste padrão para avaliar a doença e função renal desde há 100 anos. No entanto a quantificação desta proteína tem uma reduzida sensibilidade enquanto teste de diagnóstico para lesão renal precoce, uma vez que só se encontra elevada quando 75% da função renal está comprometida e é necessário ter em conta que a manutenção dos valores de creatinina dentro dos intervalos de referência não significa o correcto funcionamento renal, apenas que funciona o suficiente para manter os níveis adequados, por essa razão o estudo de *clearance* de creatinina endógena é melhor indicador de função renal. Contudo, a partir de uma incapacidade de 75% da massa renal, a elevação de creatinina sérica é constante. A razão entre a TFG e a concentração de creatinina sérica é inversamente proporcional (Meuten, 2012; Polzin, 2017). Deguchi e Akuzawa (1997) demonstraram que em gatos com doença renal crónica, a TFG é cerca de 1/3 da TFG em gatos saudáveis. Esta diferença na TFG correlacionou-se com uma concentração de creatinina sérica e ureia sanguínea, que é 5 a 8 vezes maior em gatos com doença renal.

A creatinina resulta do catabolismo muscular, estando directamente relacionada com a massa muscular do animal, o que pode resultar em falsos negativos em animais caquéticos ou com pouca massa muscular (Yerramilli et al., 2016). Esta proteína é melhor indicador da TFG do que a BUN porque a sua taxa de produção e de excreção é relativamente constante, não é metabolizada por processos renais e extra-renais e é susceptível a um menor número de factores extra-renais (Meuten, 2012).

Também os factores relacionados com a quantificação analítica da creatinina, commumente pelo método de Jaffe cinético, influenciam os valores resultantes. Assim, a hemólise da amostra, a concentração de certos antibióticos (como as cefalosporinas e aminoglicosídeos) e a interferência de compostos endógenos, como o ascorbato, piruvato, glucose, bilirrubina e cetoácidos, podem levar a uma sobrestimação do valor de creatinina. Já a subestimação do valor de creatinina pode acontecer em amostras lipémicas ou ictéricas (Yerramilli et al., 2016).

Hall, Yerramilli, Obare, Yerramilli, & Jewell (2014) realizaram um estudo retrospectivo em felinos onde demonstraram que o SDMA sorológico é um novo biomarcador que permite a detecção precoce de DRC, em comparação com a creatinina, ultrapassando o limite superior de referência quando há perda de cerca de 40% da função renal. Este marcador não é influenciado pela massa muscular, género, idade ou raça, e foi validado em cães e gatos.

Apesar das suas limitações, a quantificação de creatinina sérica continua a ser o método preferencial para avaliar a função renal quer em medicina veterinária quer em medicina humana (Yerramilli et al., 2016).

2.5.2. Concentração de ureia azotada sanguínea (BUN)

A BUN é produzida no fígado a partir do NH_4^+ e do HCO_3^- , provenientes de aminoácidos que podem ter origem em fontes proteicas endógenas ou exógenas, e é o meio principal pelo qual ocorre a excreção de azoto nos animais. Para além da excreção renal, também ocorre excreção pela via salivar, sendo posteriormente degradada em NH_4^+ pelas bactérias presentes no tracto gastrointestinal (Meuten, 2012). Apesar de ser um pior indicador da TFG do que a creatinina, a concentração sérica de BUN pode correlacionar-se melhor com os sinais clínicos e prognóstico da DRC do que a creatinina uma vez que representa as toxinas urémicas, responsáveis pelo síndrome urémico.

No entanto, antes de interpretar os valores quantificados é necessário ter em conta os factores que influenciam esses valores. A BUN pode ser influenciada por múltiplos factores que não se correlacionam com a TFG, como a perfusão renal, a ingestão proteica, a presença de hemorragia gastrointestinal superior, o tempo entre a ingestão de alimento e a colheita de sangue, a utilização de fármacos (por exemplo os corticosteróides), a função hepática e a presença de *shunt* porta-sistémico (Meuten, 2012). Para além destas variações, a concentração de BUN resulta da soma da sua filtração e da sua reabsorção tubular (Meuten, 2012; Polzin, 2017). Num estudo realizado por Deguchi e Akuzawa (1997), a taxa de reabsorção tubular de ureia filtrada, em gatos saudáveis e em gatos com doença renal crónica, encontrava-se entre 54,1 a 60,5%. A taxa de reabsorção tubular pode variar com o estado de hidratação do animal e com a taxa do fluxo do filtrado glomerular dentro dos túbulos (Meuten, 2012).

3. Quimioterapia

Devido a diversos factores, a prevalência de casos oncológicos em animais de companhia está a aumentar nos dias de hoje. O principal motivo poderá ser o aumento da esperança média de vida dos animais devido aos crescentes cuidados médico-veterinários aliados aos cuidados que os próprios proprietários lhes prestam. Nos Estados Unidos da América, pelo menos 4 milhões de gatos e cães por ano, desenvolvem cancro (Withrow, Vail, & Page, 2013). A abordagem terapêutica em oncologia passa por diversas áreas, como a cirurgia, a radioterapia, a imunoterapia, a fototerapia e a quimioterapia.

Em medicina veterinária, quando a cura não é possível, o objectivo da quimioterapia pode passar pelo tratamento paliativo. Este tem como finalidade a melhoria da qualidade de vida e se possível prolongar a esperança de vida, sendo aplicado quando o prognóstico é mau e a toxicidade associada ao tratamento não justifica a sua aplicação para o benefício que traria. A cura (definida como a erradicação de todas as células tumorais resultando num estado livre de doença permanente) é difícil de atingir devido à restrição de doses utilizadas para prevenir os efeitos secundários, sendo apenas atingida numa pequena percentagem de animais após instaurada a terapia aconselhada (Frimberger & Moore, 2017).

As modalidades de tratamento quimioterápico são várias: (a) quimioterapia primária, normalmente aplicada a tumores hematopoiéticos (por exemplo, linfoma, leucemia, mieloma múltiplo) e tumores com grande potencial de metastização (por exemplo, hemangiossarcoma e osteossarcoma) (Dobson & Lana, 2010), (b) quimioterapia adjuvante, aplicada após a irradiação ou excisão cirúrgica do tumor primário, para atrasar a progressão de metástases ou possivelmente para atingir a cura, (c) quimioterapia neoadjuvante, utilizada previamente a cirurgias ou radiação, com o objectivo de reduzir o tamanho do tumor primário, (d) a quimiorradioterapia, onde os quimioterápicos aplicados potenciam a acção da radioterapia (Frimberger & Moore, 2017; Gustafson & Page, 2013); (e) quimioterapia de indução, cujo conceito é semelhante à quimioterapia neoadjuvante no entanto refere-se à fase inicial do tratamento com o intuito de induzir a remissão em tumores hematopoiéticos ou linfóides, (f) quimioterapia de manutenção, com o objectivo de manter a remissão, (g) quimioterapia de consolidação, com o objectivo de manter uma remissão já atingida, e (h) quimioterapia de resgate, quando o tumor não responde à primeira abordagem quimioterapêutica ou quando existe recorrência do tumor (Gustafson & Page, 2013).

Os fármacos utilizados nestes protocolos têm como alvo as células em divisão, actuando em fases específicas do ciclo celular. A maioria dos compostos intervêm nos processos de replicação do ADN (fase S) e de divisão celular (fase M), enquanto que uma nova classe de

compostos, os inibidores de sinais de transdução, interferem com processos sinalizadores que desencadeiam a proliferação celular (Gustafson & Page, 2013).

Ainda em relação aos fármacos antineoplásicos, existem conceitos relevantes sobre a farmacologia, como é o caso da (a) dose máxima tolerada (DMT), que representa a dose máxima que pode ser administrada com ausência de efeitos adversos irreversíveis ou inaceitáveis; da (b) intensidade da dose, um parâmetro que mede a dose por unidade de tempo, permitindo a comparação de diferentes esquemas terapêuticos. Por exemplo, realizar um esquema de administração a cada 3 semanas ou a cada semana, o que determinará se a intensidade de dose ou a dose total do fármaco administrado está relacionado com a toxicidade ou o resultado terapêutico. Este parâmetro permite adequar o esquema de administração caso a caso. Outro termo relevante é o (c) ganho terapêutico, avaliado quando se utiliza uma combinação de fármacos ou uma combinação entre fármaco e radiação, e na base de um ganho terapêutico positivo está um efeito aditivo ou sinérgico de toxicidade sobre o tumor, que seja maior do que nos tecidos normais (Gustafson & Page, 2013).

A principal razão para insucesso da quimioterapia é a resistência aos fármacos utilizados por parte das células tumorais, que pode ocorrer pela diminuição do influxo celular destes fármacos, pela alteração da afinidade do alvo para o fármaco, ou ainda por um aumento do efluxo celular do fármaco. Ainda pode existir adaptação do organismo através de um aumento do metabolismo ou destoxificação do fármaco (Dobson & Lana, 2010; Gustafson & Page, 2013). Existe ainda outra razão para o insucesso da quimioterapia, e que se refere à toxicidade inaceitável causada pela administração dos compostos quimioterápicos. O perfil de toxicidade pode ser classificado com base no tempo que leva até ao desenvolvimento de sinais evidentes. A (a) toxicidade imediata, ocorre no momento do tratamento ou demora entre 24 a 48 horas a ocorrer, a (b) toxicidade aguda, ocorre entre 2 a 14 dias após o tratamento, e a (c) toxicidade cumulativa/crónica pode demorar semanas, meses ou anos até ocorrer. São exemplos de toxicidade imediata as reacções alérgicas (L-asparaginase), a desgranulação de mastócitos induzida pelo veículo (etopósido, paclitaxel), a náusea aguda ou vômito (cisplatina, doxorubicina se infusão demasiado rápida), e ainda necrose tecidular com quimioterápicos irritantes/necrosantes. A toxicidade aguda inclui depressão da medula óssea, náusea, vômito, diarreia. A toxicidade cumulativa ou crónica inclui a disfunção hepática, cardíaca ou renal. As estratégias e os testes de rotina para reduzir os riscos destes efeitos crónicos estão protocolados e os proprietários devem estar adequadamente informados sobre os possíveis sinais que os pacientes podem apresentar, de maneira a existir uma actuação rápida por parte do médico veterinário assistente (Gustafson & Page, 2013).

Como mencionado anteriormente, poderá existir um ganho terapêutico quando se utiliza uma combinação de fármacos, e por essa razão existem protocolos com múltiplos compostos.

Apresentam-se na tabela 4 as vantagens e as desvantagens de aplicar um protocolo quimioterápico único ou múltiplo.

Tabela 4 - Vantagens e desvantagens de protocolo quimioterápico único e múltiplo (adaptado de Dobson & Lana, 2010)

Protocolo quimioterápico único		Protocolo quimioterápico múltiplo	
Vantagens	Desvantagens	Vantagens	Desvantagens
Menor custo	Eficácia menor	Eficácia maior	Maior custo
Menor risco de toxicidade	Menor controlo tumoral, possivelmente devido ao desenvolvimento de resistência	Desenvolvimento de resistência mais lento	Maior risco de toxicidade
Menor tempo hospitalizado			Maior tempo hospitalizado

Para que um fármaco quimioterápico seja eficaz, este tem de chegar à célula em questão e exercer um efeito tóxico na mesma. A célula tem de ser susceptível ao fármaco de interesse, sem que manifeste resistência. Os factores farmacocinéticos e farmacodinâmicos influenciam a dose utilizada, o tempo de administração e o mecanismos de acção do composto utilizado (Dobson & Lana, 2010).

A administração dos fármacos quimioterápicos baseia-se na administração da DMT, no menor intervalo possível, enquanto mantém um perfil de toxicidade aceitável. O cálculo de dose a administrar baseia-se principalmente na área corporal, resultando na unidade de miligrama por metro quadrado (mg/m^2) (Dobson & Lana, 2010; Frimberger & Moore, 2017; Gustafson & Page, 2013). No entanto, segundo Gustafson e Page (2013), em cães com peso inferior a 15 quilograma (kg) ou em administrações de doxorrubicina a gatos, a unidade deverá ser de miligrama por quilograma (mg/kg), devido a uma evidência empírica de um perfil de toxicidade mais adequado (Frimberger & Moore, 2017).

O intervalo entre administrações deve permitir a recuperação adequada das células normais enquanto mantém a taxa de mortalidade de células tumorais no limite máximo, e por essa razões os anti-neoplásicos são administrados de uma forma pulsátil. Por exemplo, os compostos mielossupressores como a doxorrubicina e a ciclofosfamida, são administrados em ciclos de 21 dias, uma vez que o *nadir* da contagem de células brancas ocorre entre 7 a 10 dias, e a recuperação ocorre até aos 21 dias (Dobson & Lana, 2010).

Assim, o tratamento convencional baseia-se na aplicação da DMT, que permite atingir o máximo de mortalidade de células tumorais e requiere um tempo de descanso que permita a recuperação das células normais. Mais recentemente, desenvolveu-se a designada terapia metronómica, que compreende uma redução da dose administrada com uma exposição mais contínua das células tumorais aos quimioterápicos, com redução ou eliminação do tempo de

recuperação entre cada administração. Este protocolo tem um menor perfil de toxicidade e é facilitado pela administração oral dos fármacos, o que reduz o seu custo. O mecanismo de acção desta modalidade terapêutica explica-se pela modulação das vias de angiogénese tumoral (Argyle, 2013; Dobson & Lana, 2010; Frimberger & Moore, 2017).

De modo a aumentar a eficácia e diminuir o pico de concentração plasmática (responsável por causar toxicidade), existem em investigação diferentes sistemas de distribuição destes fármacos, como é o caso da utilização de sistemas de distribuição que utiliza polímeros ou a encapsulação em lipossomas. Outros mecanismos já estudados, são a aplicação intratumoral ou intracavitária do fármaco, aumentando a eficácia e diminuindo a toxicidade tal como a exposição sistémica (Dobson & Lana, 2010).

No anexo 1, encontra-se uma descrição generalizada das diferentes classes de antineoplásicos.

3.1. Doxorrubicina

A doxorrubicina, ou adriamicina, foi descoberta em 1969, após a mutação do fungo *Streptomyces peucetius*, produtor da primeira antraciclina, a daunorrubicina, em *S. peucetius* var. *caesius* (Arcamone et al., 1969). Desde 1970, mais de 7000 artigos sobre o novo composto antitumoral foram publicados (Speth, Van Hoesel, & Haanen, 1988).

3.1.1. Farmacocinética

O fármaco pode ser administrado via endovenosa (EV), intra-arterial, intraperitoneal, intrapleurale e intravesical. A via oral não é utilizada visto ter uma biodisponibilidade de 5%, e as vias subcutânea, intramuscular e intratecal estão contra-indicadas uma vez que ocorre necrose grave. Após a administração EV, obtém-se uma concentração plasmática máxima directamente proporcional à dose administrada que diminui rapidamente após ligação de 50 a 85% do fármaco às proteínas plasmáticas (Speth et al., 1988).

Após administrações repetidas, não se verificou acumulação no plasma mas observou-se acumulação a nível celular (Speth et al., 1988). Assim, a concentração de doxorrubicina nos tecidos saudáveis ou tumorais excede até 10 a 500 vezes a concentração plasmática (Cummings & McArdle, 1986), com 80% do fármaco no núcleo da célula (Speth, Linssen, Holdrinet, & Haanen, 1987).

A administração de doxorrubicina em infusão contínua e a taxa constante, em comparação com a administração em bólus endovenoso, diminui o pico de concentração plasmática ($C_{máx}$) mas não diminui a área sob a curva (AUC) (Eksborg, Strandler, Edsmyr, Naslund, & Tahvanainen, 1985). Em infusão, a concentração celular de doxorrubicina continua a aumentar mesmo após o fim da administração, ao contrário da administração em bólus, em

que há um influxo celular rápido e considerável. Assim, com a diminuição do pico plasmático, há uma diminuição da toxicidade induzida pela doxorubicina nos tecidos (Speth et al., 1987).

A metabolização da doxorubicina pode ocorrer em todas as células devido à presença de aldocetoreductases NADPH-dependentes citoplasmáticas, no entanto ocorre em maior extensão nos eritrócitos, nas células hepáticas e renais. A doxorubicina é então metabolizada em doxorubicinol e em agliconas, a doxorubicinona e a 7-desoxidoxorubicinona. A doxorubicina e o doxorubicinol são citotóxicos, mas a doxorubicinona não é. É a redução da doxorubicina que leva ao desenvolvimento de RLOs, responsáveis pela lesão e morte celular (Gustafson & Page, 2013; Speth et al., 1988).

A eliminação da doxorubicina e dos seus metabolitos, ocorre principalmente pela biliar, e 50% é eliminada na primeira passagem hepática. Não foi observada nenhuma evidência da existência de uma circulação enterohepática. Apesar de alguns pacientes notarem uma coloração avermelhada da urina após a administração, em média apenas 5% da dose foi recuperada na urina (Speth et al., 1988).

A doxorubicina é caracterizada por ter um efeito dose-resposta directo, ou seja, abaixo de um limiar não existe efeito sobre os tecidos tumorais, no entanto a partir de uma determinada concentração já se observa citotoxicidade e efeitos secundários consideráveis (Speth et al., 1988).

Num estudo realizado por Hahn, Frazier, Cox, e Legendre (1997), sobre a farmacocinética da doxorubicina em gatos, os autores confirmaram que a uma taxa de infusão mais lenta, aumenta a AUC e aumenta a fase de distribuição. Os autores referem também que um aumento de dose com uma taxa de infusão lenta pode aumentar a taxa de sucesso, mas também pode aumentar o risco de toxicidade. Demonstram assim a importância de padronizar os protocolos por taxa de infusão em vez de duração de infusão, de maneira a considerar o fenómeno dose-resposta em pacientes veterinários (Hahn et al., 1997).

Assim, os parâmetros da farmacocinética com maior importância são os que se relacionam com a resposta à terapia ou com a toxicidade, e normalmente são a AUC ou a $C_{m\acute{a}x}$. As informações obtidas no Homem permitiram o ajuste do protocolo para uma infusão contínua entre 10 a 30 minutos, de maneira a diminuir a $C_{m\acute{a}x}$ e assim a toxicidade nos tecidos, como a cardiotoxicidade (Gustafson & Page, 2013).

3.1.2. Farmacodinâmica

A doxorubicina possui vários mecanismos para induzir toxicidade celular, incluindo a (a) lesão sobre o ADN através da intercalação no ADN, da inibição das topoisomerasas II (enzimas responsáveis pela quebra da cadeia de modo a possibilitar a replicação e transcrição), e da

alquilação do ADN; (b) a formação de RLOs, com potencial de peroxidação dos lípidos, e a quelação do ferro, (c) a ligação cruzada de cadeias do ADN, (d) a interacção com os componentes da membrana plasmática, a inibição da tioredoxina reductase (enzima envolvida na protecção celular contra RLOs), a perturbação da homeostasia do Ca^{2+} , e a (e) indução de apoptose celular. Estes mecanismos são também os responsáveis pelos seus efeitos secundários (Gewirtz, 1999; Keizer, Pinedo, Schuurhuis, & Joenje, 1990; Müller, Niethammer, & Bruchelt, 1998; Speth et al., 1988).

A lesão sobre o ADN pode ocorrer por intercalação da doxorrubicina, com consequente quebra das cadeias, por peroxidação de componentes do ADN devido a formação de complexos com o ferro, por inibição das topoisomerasas II, e por último a indução de apoptose (Zhang, Clark, Herman, & Ferrans, 1996). No entanto Gewirtz (1999), reporta que a intercalação com o ADN parece ser um efeito transitório e citostático, enquanto que a inibição das topoisomerasas II parece exercer um efeito mais letal nessas células.

A formação de RLOs pela metabolização da doxorrubicina dá-se por 2 vias, conduzindo ao dano do ADN. A primeira via envolve a redução, por um electrão, da doxorrubicina, que é uma quinona, num radical livre intermédio, uma semi-quinona, seguindo-se reacções com o oxigénio (O_2) molecular, resultando na formação de RLOs como o super-óxido ($\text{O}_2^{\cdot-}$) e o hidroxilo (OH^{\cdot}), e em menor extensão o peróxido de hidrogénio (H_2O_2). A segunda via de formação de radicais livres resulta da interacção da doxorrubicina com iões metálicos, especialmente o ferro (Rajagopalan, Politi, Sinha, & Myers, 1988). A formação dos radicais livres pode levar à peroxidação dos lípidos, no entanto Gewirtz (1999) refere que não há evidências desta ter um efeito antitumoral directo, como tem na toxicidade associada à doxorrubicina. O autor reporta ainda a relação entre a diminuição dos níveis de glutathione (GSH), um anti-oxidante celular, e um aumento da sensibilidade das células à toxicidade induzida pelos radicais livres, demonstrada pelo aumento da peroxidação lipídica. No entanto, o mesmo autor levanta a questão sobre o desenvolvimento destes radicais livres em ambientes hipóxicos, como os existentes nas células tumorais, e se este mecanismo é realmente responsável pela toxicidade tumoral (Gewirtz, 1999).

Outro mecanismo de produção de radicais livres ocorre através da produção de NO, que se encontra potenciado pela administração de doxorrubicina (Yagmurca et al., 2004). O NO é um radical que pode actuar como composto citoprotector ou citotóxico, e é gerado pelas via sintase monóxido de azoto endotelial (eNOS) ou via sintase monóxido de azoto induzível (iNOS) (Ayla et al., 2011). Ayla et al. (2011) observaram um aumento dos níveis de iNOS e eNOS após a administração de doxorrubicina. A iNOS está também envolvida no processo inflamatório, contribuindo assim para a nefrotoxicidade da doxorrubicina (Yagmurca et al., 2004).

Na interacção com a membrana plasmática, a doxorubicina liga-se a fosfolípidos responsáveis pelo mecanismo de transporte de electrões, o que resulta em morte celular (Speth et al., 1988).

A indução de apoptose celular pela doxorubicina parece depender do tipo de célula e da concentração do fármaco. Ocorre por um conjunto de mecanismos diversos, como por exemplo a lesão do ADN, a formação de RLOs, e a inibição do sistema de proteínas p53 (Müller et al., 1998).

O mecanismo proposto como o de maior importância na actividade antitumoral das antraciclinas foi a sua interacção com as topoisomerases II. Esta afirmação baseia-se no facto de que as células tumorais resistentes às antraciclinas possuem uma baixa concentração desta enzima ou que esta se encontra alterada, e de que existe concomitantemente uma redução na quebra de cadeias de ADN (Gewirtz, 1999). O autor observou que esta interacção com as topoisomerases II ocorre com uma concentração do fármaco clinicamente aceitável.

3.1.3. Aplicações clínicas

A doxorubicina começou a ser utilizada em gatos no final da década de 70 (Henness, Theilen, & Lewis, 1977, citado por Reiman, Mauldin, & Mauldin, 2008), data a partir da qual têm sido reportados estudos de toxicidade e eficácia em tumores felinos, como o linfoma e sarcomas associados à zona da vacinação (Jeglum, deGuzman, & Young, 1985; Mauldin, Matus, Patnaik, Bond, & Mooney, 1988, citado por Reiman et al., 2008). A utilização de doxorubicina em protocolos utilizados em carcinomas mamários e em fibrossarcomas não extirpáveis também se encontra descrita (Barber, Sorenmo, Cronin, & Shofer, 2000; McNeill et al., 2009).

Kristal et al. (2001) concluíram que a doxorubicina como fármaco único na quimioterapia contra o linfoma felino não é efectivo, mas devido a uma taxa de resposta geral de 42%, este fármaco pode ser útil em combinação com outros quimioterápicos, o que também já teria sido evidenciado por Peaston e Maddison (1999), sobre o uso da doxorubicina em linfossarcomas felinos. Oberthaler, Mauldin, McManus, Shofer, e Sorenmo (2009) também estudaram a eficácia da doxorubicina em caso de linfoma felino, como fármaco de resgate, demonstrando apenas eficácia em linfomas de células pequenas a médias ou quando adjuvada por outros quimioterápicos, concluindo que este fármaco geralmente é mais útil em protocolos de indução.

A inclusão da doxorubicina em protocolos adjuvantes para o tratamento do adenocarcinoma felino, após cirurgia radical, é discutível. Num estudo realizado por Novosad et al. (2006), observa-se uma MTS de 448 dias, evidenciando-se um aumento do tempo de sobrevivência quando comparado com animais apenas submetidos à cirurgia. No entanto, McNeill et al. (2009) testam a mesma hipótese, incluindo um grupo controlo, pela primeira vez. O autor

conclui que o benefício da terapia adjuvante com doxorrubicina é questionável, não identificando uma diferença estatisticamente significativa entre o grupo de controlo, apesar de apresentar uma MTS de 848 dias.

Mauldin et al. (1988) reportam uma taxa de resposta geral de 48%, após terapêutica com a associação da doxorrubicina com a ciclofosfamida, em 23 gatos portadores de tumores orais e mamários malignos. A mesma taxa de resposta ocorreu em 14 gatos, com adenocarcinomas mamários (Jeglum et al. (1985), citado por Mauldin et al., 1988).

Barber et al. (2000) realizaram um estudo retrospectivo com o objectivo de determinar a eficácia da associação entre a doxorrubicina e a ciclofosfamida, em gatos portadores de fibrossarcomas não extirpáveis, associados a locais de vacinação. Apesar das limitações impostas pelo tipo de estudo, observou-se a citorredução tumoral em 33% dos animais, com possibilidade de excisão cirúrgica posterior, a qual foi recomendada em virtude do risco de recorrência. A taxa de resposta geral ao protocolo foi de 50%, semelhante aos estudos referidos anteriormente (Barber et al., 2000). Também Martano et al. (2005) relatam o aumento da excisão de fibrossarcomas aquando da administração de doxorrubicina como quimioterapia neoadjuvante, apesar de não ser evidente um aumento do período livre de doença, uma diminuição da taxa de recorrência ou da taxa de metastização. Só mais tarde, Bray e Polton (2016) observaram uma mediana do tempo de sobrevivência (MTS) de 2014 dias, desde o início do protocolo com epirrubicina como quimioterapia neoadjuvante, em gatos portadores de fibrossarcomas, e que foi superior à observada em estudos prévios. A utilização de epirrubicina, em vez de doxorrubicina, baseou-se na evidência noutras espécies, de que esta possui menos efeitos adversos do que a doxorrubicina (Bray & Polton, 2016).

Assim, em medicina veterinária, a doxorrubicina pode ser utilizada em protocolo único ou combinado, no tratamento de linfoma, sarcomas de tecidos moles, osteossarcomas, hemangiossarcomas e para a maioria de neoplasias mesenquimatosas e epiteliais (Gustafson & Page, 2013; Ramsey, 2017).

3.1.4. Posologia

A dose convencional de doxorrubicina é 30 mg/m², administrada por via EV, em infusão contínua (10 a 30 minutos), a cada 3 semanas em cães com mais de 15kg. Nos cães com menos de 15 kg ou em gatos, é recomendada uma dose de 1 mg/kg. Estas diferenças reflectem a experiência de vários especialistas que consideram que se verifica uma sobredosagem nestes animais quando o cálculo da dose é feito com base na área corporal (BSA) (Gustafson & Page, 2013).

O'Keefe, Sisson, Gelberg, Schaeffer, & Krawiec (1993) recomendam a utilização da dose de 25 mg/m², a cada 21 dias, em gatos. Também Kristal et al. (2001), utilizam a dose de 25

mg/m², a cada 21 dias, até um total de 5 sessões, e recomendam a manutenção do tratamento caso haja falha na resposta. Este autor refere ainda que esta dose é clinicamente tolerada em gatos.

Também Ramsey (2017) refere que em gatos deve ser utilizada a dose de 1 mg/kg ou 20 a 25 mg/m², a cada 3 a 5 semanas, sem exceder a dose cumulativa de 240 mg/m².

Reiman et al. (2008), compararam a utilização de 2 esquemas posológicos diferentes, após a observação, realizada por Zwahlen, Lucroy, Kraegel, e Madewell (1998), de uma diminuição da eficácia da doxorrubicina ao diminuir a dose administrada devido ao desenvolvimento de toxicidade. Assim, Reiman et al. (2008) concluíram que não existe um aumento do risco de toxicidade associado à administração de 25 mg/m² em conjunto com fluidoterapia subcutânea, em comparação com a administração da dose de 1 mg/kg (aproximadamente 20 mg/m²).

No estudo realizado por Mauldin et al. (1988), foi proposta a dose de 25 mg/m² administrada EV, a cada 21 dias, em combinação com ciclofosfamida, para a abordagem de tumores não hematopoiéticos em gatos, com uma boa taxa de resposta e uma toxicidade mínima.

Uma vez que o fármaco provoca uma extensa necrose se ocorrer extravasão, será aconselhável sedar o animal para que este se mantenha imóvel de modo a evitar esse problema. Se a extravasão ocorrer, aconselha-se a administração de dexrazoxano (fármaco cardioprotector em humanos), e a aplicação de gelo (Gustafson & Page, 2013).

A doxorrubicina pode interagir com outros fármacos negativamente. A utilização concomitante de ciclofosfamida aumenta o risco da ocorrência de nefrotoxicidade em gatos. Está ainda contra-indicada a associação de doxorrubicina com dexametasona, 5-fluorocil e heparina, uma vez que esta associação leva à formação de um precipitado. De referir ainda que a administração concomitante de barbitúricos aumenta a *clearance* de doxorrubicina, diminuindo assim o seu efeito (Ramsey, 2017).

3.1.5. Efeitos adversos

Em cães e no Homem, a toxicidade associada à administração de doxorrubicina está bem caracterizada, no entanto em gatos esta continua a ser um foco de interesse (Bertazzoli, Chieli, & Ferni, 1972; Ogilvie, Richardson, & Curtis, 1989; citado por O'Keefe et al., 1993). Os estudos publicados entre 1977 e 1993 associaram a administração de doxorrubicina, em gatos, a uma toxicidade significativa, incluindo lesão renal, mielossupressão, anorexia e perda de peso, sendo os dois últimos eventos adversos os mais comuns (Cotter et al., 1985; Henness et al., 1977; Jeglum et al., 1985; Mauldin et al., 1988; O'Keefe & Schaeffer, 1992; O'Keefe et al., 1993).

A toxicidade imediata provocada pela doxorrubicina pode manifestar-se por reacções de hipersensibilidade ou anafiláticas. Já a toxicidade aguda pode manifestar-se por alterações do foro gastrointestinal, como anorexia, náusea, vômito ou diarreia, e também do foro cardíaco (por exemplo, arritmias). A toxicidade crónica manifesta-se por mielossupressão, doença renal crónica, alopecia e cardiomiopatia (Gustafson & Page, 2013; Speth et al., 1988).

O'Keefe e Schaeffer (1992) realizaram um estudo no qual a dose administrada foi de 30 mg/m², a cada 21 dias, com a recomendação de a diminuir para 25 mg/m² caso ocorresse neutropénia e esta se mantivesse nos tratamentos subsequentes. A dose cumulativa de doxorrubicina apresentou-se entre 225 a 300 mg/m² (O'Keefe & Schaeffer, 1992). Os autores reportaram a ausência de alterações significativas no hematócrito e noutros parâmetros eritrocitários, apesar do número de poiquilócitos ter aumentado. Também foi observada uma ligeira trombocitose, mas a alteração mais comum observada foi a presença de neutropénia, com um nadir entre o dia 8 e dia 11, e com uma incidência de 30%, acompanhada de episódios febris em 10% dos casos. Já Kristal et al. (2001) observaram a ocorrência de neutropénia 7 dias após o primeiro tratamento com doxorrubicina (a mediana de dose administrada foi de 32 mg/m²), em gatos com linfoma. Esta ocorrência é compatível com o valor observado por O'Keefe e Schaeffer (1992).

No estudo realizado por O'Keefe et al. (1993), a anorexia e perda de peso foram os efeitos adversos mais frequentes, em especial após administração de doses cumulativas de 150 mg/m² de doxorrubicina. Tal como noutras espécies, os episódios de vômito e diarreia foram auto-limitantes. As alterações ecocardiográficas e histológicas cardíacas também foram semelhantes ao reportado noutras espécies (diminuição da fracção de encurtamento e aumento da espessura do ventrículo esquerdo, e vacuolização dos miócitos), no entanto nestes gatos não houve evidência clínica de insuficiência cardíaca, nem se detectaram arritmias cardíacas, apesar de todos os animais evidenciarem alterações histológicas cardíacas.

O'Keefe et al. (1993) observaram ainda a ocorrência de toxicidade renal moderada nos gatos, após administração de doxorrubicina (dose cumulativa superior a 125 mg/m²). Apesar de todos os animais apresentarem lesões histológicas renais, apenas 3 gatos, em 6, desenvolveram doença renal clínica, com a presença de azotémia e diminuição da DUE, o que indica uma expressão individual variável da toxicidade induzida. Os autores observaram uma diminuição significativa da *clearance* de creatinina endógena ao longo do estudo. As alterações histológicas observadas incluíam vacuolização celular moderada, citomegália das células tubulares, cilindros tubulares, nefrite intersticial não supurativa, e espessamento da matriz mesangial. A dilatação tubular e fibrose intersticial havia já sido observada, em gatos

submetidos à administração de doxorubicina, com uma dose cumulativa superior a 125 mg/m² (Cotter et al., 1985).

O'Keefe et al. (1993) também reportaram a presença de degeneração da mielina do nervo ciático, com fraqueza muscular evidente, e presença de edema pulmonar moderado a nível histológico. Estes efeitos adversos não haviam sido descritos. A ocorrência de efeitos adversos como a perda das vibrissas, ou bigodes, e atrofia testicular foram também observados, à semelhança do que se verificou noutros estudos (Bertazzoli et al., 1972, citado por O'Keefe et al., 1993).

Na sequência dos resultados obtidos, O'Keefe et al. (1993) recomendaram, como já referido, a administração de doxorubicina na dose de 25 mg/m², de 21 em 21 dias, a realização de hemograma e contagem de plaquetas nos dias 1 e 8 de cada ciclo, a avaliação da função renal através da quantificação de creatinina sérica, ureia e DUE, previamente a cada sessão, a realização de ecocardiograma previamente à instituição da terapêutica e caso se desenvolvam sinais clínicos ou se a dose cumulativa ultrapassar os 150 mg/m². Se ocorrerem alterações renais ou cardíacas é necessário ponderar os benefícios e riscos da continuação da terapia.

Cotter et al. (1985), documentaram o desenvolvimento de nefrotoxicidade em 5 gatos submetidos à administração de doxorubicina, em doses de 30-40 mg/m², a cada 21 dias. A nefrotoxicidade foi observada em gatos a partir de uma dose cumulativa entre 130-320 mg/m², suspeitando-se assim de toxicidade dependente da dose. A causa de morte em 4 gatos foi o desenvolvimento progressivo de doença renal, com alterações histológicas renais, presentes em todos os gatos. A DRC desenvolveu-se em todos os animais num período de 7 meses.

No estudo de Mauldin et al. (1988) observou-se que cerca de 12% dos gatos desenvolveu azotémia, com uma dose cumulativa de doxorubicina maior ou igual a 100 mg /m², concomitantemente com a uma dose cumulativa de ciclofosfamida maior ou igual a 800 mg/m².

Em 2006, Novosad et al., relataram também a presença de azotémia em 5% dos gatos submetidos à quimioterapia adjuvante com doxorubicina, para o adenocarcinoma mamário, numa dose de 1 mg/kg, a cada 3 semanas, num máximo de 5 doses ou até ao desenvolvimento de doença concomitante. No entanto, existe a possibilidade da azotémia ter sido subestimada devido à natureza retrospectiva do estudo.

No estudo realizado por Reiman et al., (2008) em gatos, foi realizada a comparação de 2 doses diferentes de doxorubicina, não tendo sido observados efeitos estatisticamente diferentes. Contudo, os efeitos adversos mais comum foram igualmente os gastrointestinais. Foi verificada a presença de neutropénia, mais comum no dia 6 após o tratamento, compatível

com estudos anteriores já mencionados. A alopecia e crescimento lento do pêlo também se verificou em todos os gatos. A incidência de azotemia leve foi de 16,7%, não diferindo significativamente de outros estudos em que esta foi reportada.

Para avaliar a gravidade dos efeitos adversos associados à quimioterapia em cães e gatos, o *Veterinary and Cooperative Oncology Group* (VCOG), (2016) desenvolveu um sistema de classificação em graus, o *Veterinary cooperative oncology group – common terminology criteria for adverse events* (VCOG-CTCAE). Na tabela 5, encontra-se uma adaptação da classificação em graus da nefrotoxicidade associada à administração da quimioterápicos, considerando-se apenas a alteração dos valores de creatinina sérica e BUN, e os seus limites máximos de referência (LMR).

Tabela 5 - Classificação em graus da toxicidade renal associada à administração de quimioterápicos (adaptado de VCOG-CTCAE, 2016)

Evento adverso	Grau 1	Grau 2	Grau 3	Grau 4	Grau 5
Creatinina sérica	>LMR a 1,5x LMR	>1,5-2x LMR	>2-3x LMR	>3x LMR	Não se aplica
BUN	>LMR a 1,5x LMR	>1,5-2x LMR	>2-3x LMR	>3x LMR	Não se aplica
Descrição clínica	Leve; Assintomático ou sintomas leves; Sinais clínicos ou apenas observações de diagnóstico; Sem indicação de intervenção	Moderado; Intervenção mínima ou não-invasiva; Limitação moderada de actividades diárias	Grave ou medicamente significativa; Indicação de hospitalização ou a sua prolongação; Debilitante;; Limitação significativa de actividades diárias	Consequências com possível ameaça à vida; Intervenção urgente indicada	Morte relacionada com o evento adverso

BUN – *Blood urea nitrogen*; LMR – Limite máximo de referência

3.1.5.1. Nefrotoxicidade induzida pela doxorrubicina (NID)

Previamente à administração de qualquer fármaco potencialmente nefrotóxico, deve ser realizado um painel de análises, que inclua a creatinina sérica, a ureia e a DUE. A existência de doença renal prévia à administração aumenta o risco de desenvolvimento de nefrotoxicidade. Em gatos portadores de tumores ou saudáveis, está reportado o desenvolvimento de azotemia e diminuição da DUE, em caso de administração de doses elevadas e cumulativas de doxorrubicina (Dobson & Lana, 2010)

A nefrotoxicidade dos compostos quimioterapêuticos pode ser potenciada por factores de risco (descritos na tabela 6) associados ao paciente, pela capacidade renal de lidar com estes compostos e pela toxicidade inata do composto. As consequências potenciais da nefrotoxicidade são o desenvolvimento de IRA ou DRC (Perazella & Moeckel, 2010).

Tabela 6 - Factores de risco para o desenvolvimento de nefrotoxicidade, associados à quimioterapia (adaptado de Perazella e Moeckel, 2010)

Factores de risco para o desenvolvimento de nefrotoxicidade, associados à quimioterapia		
Paciente	Capacidade renal	Toxicidade inata do composto
Idade avançada e género feminino; Síndrome nefrótica, cirrose, icterícia obstrutiva; Diminuição do volume sanguíneo circulante efectivo; Perturbações metabólicas; Resposta genética imunitária; Farmacogenética predisponente a toxicidade.	Taxa de perfusão sanguínea renal aumentada; Hipóxia renal; Elevada concentração do fármaco na medula e interstício renal; Biotransformação de substâncias com formação de RLOs (stress oxidativo); Metabolismo das células tubulares da ansa de Henle acelerado; Reabsorção de toxinas no túbulo proximal.	Concentração elevada do xenobiótico e exposição prolongada; Fármacos insolúveis ou formação de cristais pelos metabolitos, dentro do lúmen tubular; Efeitos nefrotóxicos directos do fármaco; Potenciação da nefrotoxicidade por combinação de fármacos (AINE, aminoglicosídeos, contrastes).

A doxorrubicina possui diversos mecanismos de acção sobre as células tumorais, já mencionados, como a inibição da síntese de ADN por intercalação, a modulação de actividades membranares, como a síntese de glicoproteínas, a estrutura de fosfolípidos e a organização e transporte de moléculas, e ainda a indução da formação de RLOs. No entanto, os mecanismos pelos quais este fármaco é capaz de induzir nefrotoxicidade têm sido alvo de uma crescente investigação (Bertelli, Ginevri, Gusmano, & Ghiggeri, 1991). Até aos dias de hoje, o(s) mecanismo(s) pelo(s) qual(ais) a doxorrubicina induz lesão renal ainda não estão totalmente explicados, apesar de ser sugerido que a lesão renal ocorra, principalmente, pela formação de RLOs. Após a administração de doxorrubicina as propriedades anti-oxidantes ao nível do rim sofrem um decréscimo, com consequente falha renal (Kaur, Kaur, Sharma, & Kumar, 2012; Lahoti, Patel, Thekkemadom, Beckett, & D. Ray, 2012; Mohajeri & Sahebkar, 2018).

3.1.5.1.1. Carácter crónico

Após a administração de doxorrubicina a ratos, Bertani et al. (1982) observaram, o desenvolvimento de síndrome nefrótica com a presença de proteinúria persistente, hiperlipémia, edema periférico e lesão glomerular. Foi também observado a perda estrutural dos podócitos, com redução dos seus prolongamentos, e a perda das cargas aniónicas, resultando na alteração descrita. No seguimento do estudo anterior, Bertani, Rocchi, Sacchi, e Remuzzi (1983) realizaram a observação do desenvolvimento progressivo de lesão renal a longo prazo, desde a administração de doxorrubicina em ratos, até à falha renal terminal. Seis meses depois da primeira administração, observou-se a ocorrência de esclerose renal associada a alterações estruturais e intersticiais em 50% da amostra. Este estudo demonstrou os efeitos renais crónicos da doxorrubicina, após um estímulo inicial, com uma única administração. Nestes últimos estudos, sugeriu-se a NID, como um modelo universal para o estudo do síndrome nefrótico e da esclerose glomerular, no Homem (Bertani et al., 1983).

Em 1986, Okuda et al. voltaram a observar as alterações renais relatadas por Bertani et al. (1982) e o carácter crónico da NID descrita por Bertani et al. (1983). Os autores reportaram que, após 2 administrações de doxorrubicina, as lesões de esclerose glomerular começaram a surgir às 16 semanas, estando presentes em quase toda a amostra na 28ª semana. Os autores demonstraram assim lesão renal com características típicas de DRC progressiva em humanos (Okuda et al., 1986). A partir daqui, diversos estudos relatam o carácter crónico desta nefrotoxicidade. Em 2000, Y. Wang, Wang, Tay, e Harris, estabeleceram um modelo estável e reprodutível desta nefrotoxicidade em murganhos, para o estudo da inflamação e fibrose, intersticial e glomerular, e da doença crónica proteinúrica renal. Magnasco et al. (2008) observaram a presença de DRC em todos os murganhos, 3 meses após a administração de doxorrubicina. Verifica-se assim que as variações do tempo de desenvolvimento de DRC estão relacionadas com os protocolos aplicados, incluindo a dose e o intervalo entre administrações.

3.1.5.1.2. Stress oxidativo

Após a administração inicial de doxorrubicina há uma crescente produção de RLOs, no entanto, depois de o estímulo inicial desaparecer, estes continuam a ser produzidos por neutrófilos e macrófagos infiltrantes, podócitos e células mesangiais glomerulares (Deman et al., 2001; Vogtländer et al., 2006). A formação de RLOs, como o $O_2^{\cdot-}$, o OH^{\cdot} , e o H_2O_2 , é a principal responsável pela peroxidação de lípidos membranares, com consequente aumento dos níveis de malondialdeído (MDA), um marcador de stress oxidativo com elevada sensibilidade. Os RLOs também são responsáveis pela redução dos níveis de superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), enzimas com acções antioxidantes, e redução de

antioxidantes endógenos como a GSH (Lahoti et al., 2012). Após a administração de doxorrubicina em ratos, verificou-se que nos glomérulos a acção dos RLOs inicia uma cascata de eventos degenerativos que culminam na perda da integridade de membrana e de função, incluindo a oxidação de tióis celulares, como a GSH, a perturbação da homeostasia do Ca^{2+} , e a peroxidação dos lípidos membranares (Deman et al., 2001; Kaur et al., 2012; Mimnaugh, Trush, & Gram, 1986; Mohajeri & Sahebkar, 2018).

Com o objectivo de caracterizar a extensão do stress oxidativo causado pelos RLOs, nos glomérulos de ratos, foi determinada a concentração de GSH intracelular (diminui com o stress oxidativo) e a actividade da via pentose-fosfato (aumenta com o stress oxidativo) (Morgan, Kaler & Bach, 1998). Apesar da formação de RLOs nos glomérulos, ser directamente proporcional à dose administrada de doxorrubicina, não ocorreu uma alteração significativa no valor de GSH, levando os autores a concluir que a lesão glomerular decorrente da administração de doxorrubicina não é dependente unicamente do stress oxidativo. No entanto, estudos posteriores demonstram que os RLOs podem ter efeitos directos e indirectos na NID (Kramer, 2006). Kramer (2006) reporta o aumento da expressão da heparanase, uma enzima responsável pela perda de constituintes iónicos da MGB, como o sulfato de heparano. Este aumento de expressão é mediado por RLOs e pela angiotensina II, sendo um mecanismo indirecto responsável pela alteração da permeabilidade selectiva da MGB e consequente proteinúria. O mecanismo de acção directo dos RLOs observado sobre a MGB, foi a despolarização do sulfato de heparano, levando à perda da capacidade de filtração iónica (Kramer, 2006).

Lahoti et al. (2012) observaram, pela primeira vez *in vivo*, a relação entre o stress oxidativo e o potencial nefrotóxico da doxorrubicina. Ainda demonstraram o aumento da expressão de genes renais pró-apoptóticos e a redução da expressão de genes renais anti-apoptóticos, estimulada pelo stress oxidativo. Os autores relataram o aumento de creatinina e ureia séricas, o aumento dos níveis de peroxidação de lípidos e de fragmentação de ADN, acompanhada pela redução dos níveis de SOD.

3.1.5.1.3. Alterações estruturais

Apesar de estudos anteriores sugerirem a formação de RLOs, como causa principal de nefrotoxicidade da doxorrubicina, Bertelli et al. (1991) demonstraram que estes, especialmente o OH^\cdot , apesar de contribuírem para essa nefrotoxicidade, não são os únicos responsáveis pela lesão das células glomerulares. Estes autores observaram a citotoxicidade da doxorrubina nas células epiteliais viscerais glomerulares (GVEC), ou podócitos, por mecanismos que modulam a interacção entre a membrana e o fármaco, afirmando também que a acção sobre o ADN não é o mecanismo de acção da nefrotoxicidade da doxorrubicina

(Bertelli et al., 1991). Mais tarde, num estudo realizado *in vitro*, por Coers, Van der Horst, Huitema, e Weening (1994), observou-se a acção da doxorrubicina sobre o citoesqueleto e a matriz extracelular das GVEC, resultando na sua degeneração, com consequente proteinúria.

Paczek et al. (1992), reportaram a acção da doxorrubicina sobre a enzima glomerular proteinase, em ratos, inibindo a sua actividade, o que culmina no desenvolvimento de glomeruloesclerose.

A indução da apoptose e necrose nas células epiteliais tubulares renais foi observada por Zhang et al. (1996), após a administração de doxorrubicina em ratos. A ocorrência de apoptose observou-se com o aumento da dose cumulativa do composto. A apoptose destas células é um ponto chave para a atrofia tubular, um pilar da DRC (Zhang et al., 1996).

No estudo já referido de Morgan et al. (1998), ainda foi avaliada a acção da doxorrubicina sobre a integridade da MGB, através da medição de lactato desidrogenase (LDH) perdida pelo glomérulo. A perda de LDH ocorreu em concentrações de doxorrubicina 20 vezes maiores do que ocorre a formação de RLOs. Isto demonstra que as alterações membranares e a formação de RLOs são mecanismos independentes entre si (Morgan et al., 1998). Por último, o estudo anterior demonstra que a doxorrubicina tem uma acção tóxica sobre o glomérulo através da inibição da síntese proteica neste. Esta acção confirmou-se pela diminuição na incorporação glomerular de uma proteína específica (Morgan et al., 1998).

Wang et al. (2000), observaram pela primeira vez uma infiltração inflamatória no interstício glomerular, que incluía macrófagos e linfócitos T, sendo um evento inicial no desenvolvimento da NID. Yagmurca et al. (2004), observaram o aumento de NO e iNOS no tecido renal, propondo-o como um estímulo para a infiltração inflamatória associada à administração de doxorrubicina.

Em 2006, Turnberg et al. (2006) demonstraram a função do sistema de complemento como um mecanismo responsável pela NID, tendo observado uma diminuição da lesão glomerular e da proteinúria concomitante com a redução de certos constituintes do sistema de complemento.

Também em 2006, foi reportado pela primeira vez o papel da proteína quinase p38 e do factor de transformação do crescimento $\beta 1$ (TFG- $\beta 1$), respectivamente na inflamação e fibrogénese, conducentes ao desenvolvimento de fibrose renal na NID (Li et al., 2006).

Ainda em 2006, foi reportado a apoptose das células mesangiais glomerulares (GMC), com redução da sua contractibilidade, devido à administração de doxorrubicina (Miller, 2006).

Posteriormente foi observado um aumento da actividade da renina, com consequente aumento da angiotensina II, após a administração de doxorrubicina em ratos (Ibrahim et al.,

2009). Apesar da angiotensina II desempenhar um papel crucial no desenvolvimento de lesão renal, os autores consideram necessários mais estudos sobre o mecanismo pelo qual a doxorrubicina conduz ao aumento desta substância (Ibrahim et al., 2009).

Já, Jeansson, Bjorck, Tenstad, e Haraldsson (2009), reportam a redução na síntese proteica de células glomerulares, com consequente redução no diâmetro do endotélio capilar glomerular. Foi também observada a redução dos prolongamentos dos podócitos, tal como a selectividade iónica. Neste estudo, (Jeansson et al., 2009) sugerem que a proteinúria presente na NID se deve a uma disfunção nas células do endotélio capilar glomerular.

Com a toxicidade da doxorrubicina sobre as células estaminais hematopoiéticas da medula óssea já estudada, Yasuda et al. (2010) colocaram a questão sobre a acção deste fármaco sobre as células progenitoras endoteliais (EPC), como causa da natureza progressiva da NID. Os autores chegaram à conclusão de que a viabilidade das EPC se encontrava reduzida, através de senescência prematura e incompetência funcional, sendo que a administração destas células melhora a função regenerativa do rim após a administração de doxorrubicina (Yasuda et al., 2010).

Sumarizando, a NID ocorre por diversos mecanismos, como: a infiltração inflamatória por macrófagos e linfócitos, a activação do complemento, o aumento da produção de RLOs, o aumento da expressão da heparanase glomerular, a desregulação do SRAA, e a activação da quinase p38 e TFG- β 1 (Yasuda et al., 2010). A nível histológico, a doxorrubicina induz glomerulosclerose global, com alteração dos podócitos, e inflamação e fibrose tubulointersticial. A redução do tamanho do endotélio glomerular e dos processos dos podócitos encontra-se associado à perda de selectividade da barreira de filtração. A função renal é afectada, demonstrando níveis elevados de creatinina plasmática, redução da *clearance* de creatinina, diminuição da albumina plasmática, dislipidémia e aumento da excreção proteica urinária, consistente com síndrome nefrótica e DRC (Lee & Harris, 2011).

Concluindo, a NID é um modelo experimental de doença renal crónica, em roedores, caracterizado por lesão dos podócitos, seguida por proteinúria e glomerulosclerose progressiva e por lesão tubulointersticial. Encontra-se associada a uma infiltração por macrófagos e linfócitos após o estímulo inicial, e a uma disfunção endotelial capilar glomerular que precede a lesão dos podócitos. A NID, como modelo experimental, pode ser utilizada para avaliar diferentes estratégias terapêuticas para tratar diferentes animais, antes ou depois, da administração de doxorrubicina (Egger et al., 2015; Wang, Wang, Harris, Alexander, & Lee, 2015).

3.1.5.1.4. Estratégias terapêuticas na NID

Uma vez que o desenvolvimento de NID é um factor limitante na dose administrada, novos métodos de terapia estão a ser estudados quer em medicina humana quer em medicina veterinária. Estes são alterações na duração da infusão, pré-medicação com diferentes compostos e a utilização de lipossomas como transportadores.

3.1.5.1.4.1. Quimioterapia alternativa

A mitoxantrona tem sido utilizada em medicina humana em substituição da doxorrubicina, quando a toxicidade desta se torna inaceitável. Esta abordagem tem vindo a ser colocada em prática, em gatos, principalmente devido aos efeitos adversos como a anorexia e a nefrotoxicidade causadas pela doxorrubicina. A utilização de mitoxantrona em gatos possui uma tolerância e segurança aceitável, no entanto a eficácia como composto único ficou aquém das expectativas, propondo-se a sua utilização em protocolos múltiplos, desde que possua tolerância clínica. A administração de mitoxantrona revelou também ter efeitos gastrointestinais e mielossupressores em gatos. (Henry, Jr, & Royer, 1994; Gregory K Ogilvie, Elmslie, Salmon, Ciekot, & Withrow, 1993).

Cunha et al. (2015) propuseram a substituição da doxorrubicina pela mitoxantrona, no tratamento dos carcinomas mamários, quando os efeitos adversos da primeira, como a azotémia, são intoleráveis. Apesar de estudos anteriores não reportarem o desenvolvimento de azotémia com a utilização de mitoxantrona em gatos, no estudo realizado, 5 gatos desenvolveram azotémia, o que foi explicado pela presença de doença renal prévia e pela presença de desidratação e anorexia. Foi assim sugerida a realização de estudos prospectivos para determinar a verdadeira significância destes resultados, aconselhando sempre a monitorização renal dos gatos previamente à administração de mitoxantrona como medida preventiva (Cunha et al., 2015).

A utilização de epirubicina em substituição da doxorrubicina em gatos é uma alternativa descrita por Elliott e Finotello (2018), como segura e efectiva em doenças neoplásicas, tendo em conta que em estudos anteriores, como o de Bray e Polton (2016), não foi observado o desenvolvimento de toxicidades significativas no gatos submetidos ao protocolo com epirubicina. Bray e Polton (2016) decidiram recorrer à utilização de epirubicina em gatos com base em estudos noutras espécies, como a humana (Launchbury & Habboubi, 1993), que reportam que, comparativamente à doxorrubicina, a epirubicina possui menor toxicidade intrínseca.

3.1.5.1.4.2. Doxorubicina encapsulada em lipossomas

O encapsulamento de substâncias activas em lipossomas altera a farmacocinética e a biodistribuição de fármacos quimioterápicos e o seu perfil de toxicidade, permitindo atenuar os efeitos tóxicos que limitam a sua utilização (Papahadjopoulos et al., 1991).

Poirier et al. (2002), realizaram um estudo com o objectivo de avaliar a eficácia e a toxicidade da utilização de doxorubicina encapsulada em lipossomas, no tratamento de sarcomas felinos associados à vacinação. Neste estudo, não se verificaram diferenças significativas entre a utilização de lipossomas ou a de doxorubicina livre, excepto a presença de azotémia em 23% dos gatos tratados com lipossomas comparada com 9% tratados apenas com doxorubicina. Esta diferença foi explicada com base na dose utilizada de doxorubicina em lipossomas, 1,5 mg/kg comparadamente a 1 mg/kg de doxorubicina livre. É, ainda, de notar que a mediana de tempo, desde o início do protocolo até ao desenvolvimento de azotémia foi de 8 meses.

Num estudo realizado por Ren et al. (2014), em murganhos, observou-se uma eficácia terapêutica superior associada a uma diminuição da toxicidade sistémica e local, ao administrar doxorubicina encapsulada em lipossomas, directamente em hepatomas.

Num estudo piloto recentemente realizado em gatos portadores de fibrossarcomas espontâneos avançados, demonstrou que a utilização de doxorubicina encapsulada em lipossomas termosensíveis, em combinação com aplicação de calor através de radiofrequência, pode ter potencial no futuro devido à existência de resposta parcial e de doença estável em alguns gatos, sem toxicidade observada. No entanto, a DMT não foi atingida, o que levanta a hipótese sobre um possível aumento da eficácia se existir aumento da dose do fármaco (Zimmermann et al., 2017).

3.1.5.1.4.3. Antioxidantes

Como descrito, a produção de RLOs conduz a uma cascata de eventos degenerativos, responsável pela mediação da inflamação renal, caracterizada pela produção de citocinas e mediadores inflamatórios, responsáveis por lesão e apoptose celular renal. Cria-se assim um desequilíbrio entre os RLOs e os sistemas antioxidantes. No sentido de tentar reduzir este desequilíbrio várias substâncias têm sido estudadas (El-Sayed et al., 2017).

Yagmurca et al. (2004), demonstraram que o tratamento prévio e concomitante, à administração de doxorubicina, com éster fenil-etílico do ácido cafeico (CAPE), um composto natural com propriedades anti-oxidantes, anti-inflamatórias e imunomoduladoras, diminuiu a peroxidação de lípidos e proteínas no tecido renal e também preveniu as alterações histopatológicas observadas em ratos com NID.

A indução da apoptose das células tubulares renais é também um mecanismo pela qual ocorre nefrotoxicidade. Neste contexto, Chen et al. (2006) estudaram o efeito da PGI₂ endógena sobre a apoptose devida à NID, concluindo que a estimulação da produção de PGI₂ endógena, por terapia genética em ratos, diminui os níveis apoptóticos observados na NID. A PGI₂ inibe a migração leucocitária e a produção de RLOs, tal como a proliferação de células mesangiais. A inibição da produção de RLOs é assim proposta como a razão pela qual a PGI₂ diminui a apoptose observada (Chen et al., 2006).

Também com actividade anti-oxidante e anti-inflamatória, a nicotinamida, um derivado da vitamina B3, administrada previamente à administração de doxorrubicina, levou à diminuição dos níveis de peroxidação de lípidos e de proteínas, e de níveis de iNOS e eNOS, tal como ligeiras alterações histopatológicas, no tecido renal de ratos (Ayla et al., 2011).

Gurel et al. (2015) relatam também o efeito protector da vitamina D sobre a NID, com diminuição do índice apoptótico e dos parâmetros de stress oxidativo.

A administração de ácido alfa lipóico em ratos também se mostrou com uma terapia nefroprotectora quando há administração de doxorrubicina, pelas suas capacidades antioxidantes, anti-inflamatórias e anti-apoptóticas (El-Sayed et al., 2017).

3.1.5.1.4.4. Fármacos moduladores do sistema renina-angiotensina-aldosterona

Pela primeira vez, um estudo reportou a acção protectora dos IECA e dos ARA, sobre o rim, em ratos submetidos à administração de doxorrubicina (Ibrahim et al., 2009). Considerando o aumento de ureia e creatinina como marcadores de nefrotoxicidade, confirmada pela histopatologia renal, os autores reportam que a utilização de captopril ou telmisartan, concomitantemente e após o fim de doxorrubicina, levou à diminuição dos níveis de ureia e creatinina e a apenas ligeiras alterações histopatológicas renais, demonstrando um efeito protector. Estes resultados encontraram-se associados a uma atenuação dos parâmetros de lesão oxidativa, como a diminuição da peroxidação de lípidos renais e o aumento da GSH renal, e a uma diminuição significativa da expressão de iNOS (Ibrahim et al., 2009).

Apesar da utilização de IECA e de ARA ter sucesso, estes provocam um aumento da PRA ao interromperem o feedback negativo antes presente, com consequente vasoconstrição e retenção de sódio e água. Como a doxorrubicina desregula o SRAA, é necessário então controlar esta actividade na base. Com esse intuito, Rashikh, Pillai, Ahmad, Akhtar, e Najmi (2013) estudaram pela primeira vez, o efeito de um inibidor directo da renina, o alisquireno, sobre a NID, em ratos. Os autores observaram um efeito protector deste fármaco, com atenuação dos parâmetros de lesão oxidativa, diminuição da PRA e manutenção da integridade da barreira de filtração, especialmente os podócitos.

No rim, há expressão de uma proteína anti-envelhecimento, que é secretada para a circulação sistémica. A expressão desta proteína encontra-se diminuída em diversas nefropatias, incluindo no modelo da NID, tendo sido observado por Takenaka et al. (2016) que a suplementação com esta proteína diminuía os níveis de angiotensina II renais e plasmáticos e diminuía a PRA, para além de possuir actividade antioxidante.

3.1.5.1.4.5. Outros

Num estudo realizado por Hussein et al. (2016), os autores observaram que a administração de doses baixas de darbopoiatina alfa reduziram as lesões renais provocadas pela doxorrubicina, devido à redução da hipóxia celular, da manutenção da integridade da membrana glomerular, da atenuação do stress oxidativo e da inibição da apoptose celular.

Ainda em estudo, encontra-se a administração de células estromais mesenquimais (CEM), pela sua capacidade de migração até ao local de lesão e de diferenciação. Anan, Zidan, Shaheen, e Abd- El Fattah (2016), demonstraram a diferenciação destas em células epiteliais renais nos túbulos afectados, atenuando a NID. No entanto, para averiguar a segurança e a eficácia desta abordagem são necessários estudos a longo prazo.

No estudo já referido, de Miller (2006) foi também determinado o efeito antiapoptótico da ciclooxigenase 2 (COX-2) sobre as GMC. A COX-2 é uma enzima que está presente normalmente nas células renais como constitutível, e com actividade antiapoptótica, no entanto quando existem condições propensas à inflamação as GMC expressam a COX-2 induzível. Apesar do efeito protector da COX-2, a progressão tumoral está acompanhada de um aumento de expressão desta enzima, e os seus inibidores diminuem a formação de múltiplos tipos de tumores. Assim, a expressão das COX-2 antagoniza o tratamento quimioterápico. Miller (2006) demonstra que uma sobre-expressão de COX-2 conduz a um aumento de expressão da proteína de resistência multifármacos 1 (MDR-1), nas GMC de ratos, protegendo-as da toxicidade causada pela doxorrubicina. Apesar dos benefícios da utilização de inibidores da COX-2 no tratamento contra tumores, a utilização destes aumentou dramaticamente a sensibilidade das GMC à doxorrubicina, presumivelmente devido à inibição da função da MDR-1 (Miller, 2006).

Recentemente, foi estudado a eficácia e a toxicidade da combinação de doxorrubicina com nanopartículas de ouro estabilizadas com GSH, um sistema de transporte de fármacos, em fibrossarcomas felinos associados à vacinação. Não se registaram efeitos negativos nos parâmetros renais, no entanto existiu falha terapêutica, carecendo de futuros estudos (Zabielska-Koczywās et al., 2018).

III. ESTUDO RETROSPECTIVO: Avaliação de eventos adversos – aumento de creatinina e/ou ureia séricas – em gatos submetidos à administração de doxorubicina

1. Introdução

A espécie felina apresenta algumas particularidades em relação a vários fármacos, uma vez que estes promovem a ocorrência de diferentes eventos adversos que não são comuns noutras espécies, como por exemplo edema pulmonar após administração de cisplatina ou neurotoxicidade após administração de 5-fluorocil (Gagnon, Dervisis, & Kitchell, 2012). A doxorubicina é uma antraciclina, um antibiótico com acção anti-tumoral, utilizada na terapêutica de diversas neoplasias, mas como todos os quimioterápicos, não atinge apenas as células tumorais, daí o seu potencial tóxico, e a possível associação entre a administração de doxorubicina e o desenvolvimento de lesão renal, com consequente DRC, é mais um exemplo de uma sensibilidade singular da espécie (Barber et al., 2000; Bray & Polton, 2016; Cotter et al., 1985; Henness et al., 1977; Kristal et al., 2001; Martano et al., 2005; Mauldin et al., 1988; Novosad et al., 2006; O'Keefe et al., 1993; Poirier et al., 2002; Reiman et al., 2008). Assim, o objectivo do presente estudo foca-se na avaliação da alteração de parâmetros renais, numa tentativa de responder às seguintes perguntas:

- A doxorubicina leva à alteração da função renal?
- Quanto tempo até esta se manifestar?
- Existe influência dos factores peso e idade?
- A nefrotoxicidade é dependente de um aumento de dose cumulativa ou de uma variação individual?
- A manifestação da lesão – a DRC – depende directamente da utilização do fármaco?

2. Material e métodos

2.1. Amostra populacional

Pela consulta dos registos clínicos, foi analisada a amostra populacional felina que se apresentou à consulta de oncologia e que realizou sessão quimioterápica com doxorubicina, no período compreendido entre 2013 e 2018, no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária.

Assim para a realização do estudo retrospectivo foram incluídos gatos portadores de neoplasias espontâneas, diagnosticadas por citologia ou histopatologia, sujeitos a protocolos unicamente compostos por doxorubicina, sem instituição de tratamentos quimioterápicos anteriores, sem relato de presença de co-morbilidades e com historial médico minimamente completo, incluindo casos referenciados.

Os dados recolhidos incluem data de nascimento, raça, género, peso, tipo de neoplasia, início e fim de tratamento, valores de creatinina e ureia séricas antes e após cada sessão de quimioterapia, data e causa de morte caso esta tenha ocorrido (anexo 2 e 3).

Os gatos submetidos a protocolos combinados com doxorrubicina, como por exemplo com ciclofosfamida, carboplatina ou em CHOP, e gatos com tratamentos quimioterápicos anteriores, com outros fármacos, foram excluídos. O tratamento concomitante com outros fármacos, como corticosteróides, anti-eméticos ou anti-ácidos, improváveis de interferir com os parâmetros renais foi permitido.

O seguimento dos animais definiu-se como o período entre o início da quimioterapia e a data de morte ou data do último registo clínico.

2.2. Administração de doxorrubicina

O início da sessão quimioterapêutica com doxorrubicina ocorria apenas após o exame de estado geral do animal e da realização da análise de creatinina e ureia séricas, estando estes parâmetros normais, e dependendo da decisão do médico veterinário assistente.

O medicamento utilizado foi a Doxorrubicina medac®, com a substância activa cloridrato de doxorrubicina, na concentração de 2 mg/mL. Após a diluição do volume correspondente à dose de 25 mg/m², em 50 mL de NaCl a 0,9%, a administração realizou-se por via EV, em infusão contínua lenta, durante 20 a 30 minutos, a cada 21 dias, num máximo de 5 ou 6 sessões.

Neste estudo o protocolo adjuvante foi o tratamento quimioterápico posterior a cirurgia definitiva para a remoção da neoplasia primária, e com o intuito de prevenir ou atrasar a progressão da doença, sendo realizadas 5 sessões. Na aplicação de um protocolo neoadjuvante, o número total de sessões pode ser de 5 ou 6, visto ter um objectivo de citorredução tumoral anterior à cirurgia, pela realização de 2 ou 3 sessões prévias à intervenção, com posterior realização de 3 sessões. O protocolo de quimioterapia primário aplicado teve como objectivo atrasar a progressão tumoral, quando a cirurgia não era aconselhada.

Imagem 1 - Infusão lenta de doxorrubicina a paciente felino



2.3. Parâmetros renais

Neste estudo, foram analisadas as concentrações séricas de creatinina e ureia (mg/dL), prévias a cada sessão e 3 semanas após cada sessão. Em casos específicos, certos valores não se encontravam disponíveis, no entanto foram garantidos como normais pelo médico veterinário assistente (anexo 3). Assumiu-se a presença de azotémia no momento em que o valor do limite superior de referência, de creatinina sérica e ureia, era ultrapassado. No entanto, a decisão de continuar o protocolo coube ao médico veterinário assistente, definindo se a azotémia era significativa o suficiente para o interromper. Quando o valor dos parâmetros se igualava ao limite superior de referência não se assumiu a presença de azotémia.

Uma vez que as análises bioquímicas foram, por vezes, efectuadas em equipamentos diferentes e consequentemente com diferentes valores de referência, recorreu-se aos critérios do VCOG-CTCAE de maneira a uniformizar os valores obtidos de diferentes animais. O evento adverso é definido como um sinal desfavorável ou indesejado, um sinal clínico ou uma doença temporária associada ao uso de um tratamento médico, que pode estar, ou não, relacionado com o tratamento médico. O evento adverso pode ser classificado por graus, que medem a gravidade dos eventos adversos. Os valores observados foram assim classificados em diferentes graus, de acordo com o VCOG-CTCAE.

O método de doseamento da creatinina sérica baseia-se na reacção cinética de *Jaffe*, um método químico baseado na reacção da creatinina com o picrato alcalino, resultando na formação de um complexo vermelho-alaranjado, cuja intensidade é então medida. As concentrações de ureia foram doseadas pelo método da urease UV, um método enzimático baseado na hidrólise da ureia pela urease, em NH_4^+ , que é depois quantificado (Lamb & Price, 2008).

2.4. Análise estatística

Os dados recolhidos foram inicialmente organizados numa base de dados com recurso ao software Microsoft Office Excel 2007®, sendo incluídos na análise estatística os gatos que preenchiam os critérios de inclusão. A análise estatística dos dados obtidos focou-se na obtenção da incidência de azotémia, comparação de valores iniciais e finais de creatinina e ureia séricas, e na análise de Kaplan-Meier dos gatos submetidos à administração de doxorubicina.

A incidência definiu-se como a proporção de gatos que, na amostra populacional de gatos incluídos no estudo, desenvolveu azotémia. Previamente à comparação dos valores iniciais e finais dos parâmetros avaliados, aferiu-se a normalidade da distribuição ($P > 0,05$), através do teste de Shapiro-Wilk. Na presunção dessa normalidade recorreu-se ao teste-t para amostras emparelhadas, caso contrário, ao teste de Wilcoxon, de modo a avaliar a existência de

diferença entre grupos ($P < 0,05$). Os valores iniciais de creatinina e ureia foram definidos como os valores prévios ao início do tratamento, enquanto que os valores finais de creatinina e ureia foram considerados como os últimos valores obtidos ao verificar a presença de azotemia significativa ou últimos valores disponíveis.

O método Kaplan-Meier permite obter o tempo desde um determinado evento, definido como o início da quimioterapia, até à ocorrência de um outro, neste caso definido como o aumento de creatinina e/ou ureia séricas. Assim neste caso concreto avaliou-se o período de tempo, em dias, desde o início do protocolo até ao aumento de creatinina e/ou ureia, ou seja o tempo até azotemia (TA). Este método permite ainda a inclusão de dados censurados (Bewick, Cheek, & Ball, 2004). A censura pode ocorrer quando existe um seguimento do animal, mas o evento não aconteceu, ou quando o seguimento é interrompido, e não existe o conhecimento de este ter ocorrido. Os dados censurados incluem os animais que não desenvolveram azotemia ou aqueles em que o seu seguimento foi interrompido, devido a morte ou desaparecimento, no período do estudo. Para avaliar se certos parâmetros, como a idade e o peso, influenciam o TA, compararam-se curvas de Kaplan-Meier através do teste *log-rank*, com um nível de significância de $\alpha = 0,05$, sendo consideradas estatisticamente significativas quando o valor $P < 0,05$.

Para efeitos de análise sobre a influência do peso, constituíram-se dois grupos de acordo com a distribuição dos valores. O primeiro grupo incluiu animais com peso vivo até 4,5 kg, enquanto que o segundo grupo incluiu animais com peso vivo superior ou igual a 4,5 kg.

Já para a análise da influência da idade, separou-se os animais em dois grupos com base na classificação de estádios de vida do consenso entre a *American Association of Feline Practitioners* (AAFP) e a *American Animal Hospital Association* (AAHA) (Vogt et al., 2010). O primeiro grupo de animais, com idade inferior ou igual a 10 anos, inclui os juvenis e adultos, enquanto que o segundo grupo, com idade superior a 10 anos, inclui os animais séniores e geriátricos (idade superior ou igual a 15 anos).

A análise estatística foi executada em *softwares* estatístico disponível, incluindo o Programa R Commander®, o Microsoft Office Excel 2007® e o EpiTools AusVet®.

3. Resultados

3.1. Caracterização da amostra populacional

Nos 28 gatos incluídos no estudo, 22 eram fêmeas e 6 machos, sendo 26 sem raça determinada, 1 de raça Persa e 1 de raça Siamesa. A mediana de idades ao primeiro tratamento foi de 11 anos, variando entre 6 a 17 anos. Já a mediana do peso foi de 4,4 kg, num intervalo entre 3 e 6,8 kg.

Quanto às neoplasias apresentadas pelos animais, registaram-se 12 indivíduos com fibrossarcoma, 12 indivíduos com carcinoma mamário, 1 indivíduo com hemagiossarcoma, 1 indivíduo com osteossarcoma, 1 indivíduo com sarcoma indefinido e 1 indivíduo com sarcoma de células fusiformes.

Até ao momento do tratamento de dados a mediana, em dias, do seguimento dos animais foi de 235,5 dias, com um mínimo de 27 dias e um máximo de 1929 dias.

3.2. Sessões de quimioterapia

A todos os animais foi realizada colheita de sangue para análise de creatinina e ureia previamente a cada sessão e cerca de 3 semanas após a última sessão, de modo a avaliar a função renal, e assim se permitir ou não a realização de uma próxima sessão de tratamento. No caso dos gatos 4, 9 e 14, adicionou-se ao protocolo fluidoterapia de manutenção devido à aproximação dos parâmetros renais do limite superior de referência.

Em 61% (17/28) dos gatos, estava planeado a realização de um protocolo adjuvante, em 36% (10/28) a realização de um protocolo neoadjuvante e em 3% (1/28) um protocolo primário. Contudo, em 16 animais (gatos 1-16) o protocolo estipulado não foi completado, pois 14% (4/28) realizaram apenas uma sessão, 14% (4/28) apenas duas sessões, 11% (3/28) apenas 3 sessões e 18% (5/28) realizaram apenas 4 sessões. Dos restantes animais, 36% (10/28) completaram 5 sessões de doxorrubicina e 7% (2/28) completaram 6 sessões. A mediana de sessões realizadas foi de 4, com um mínimo de uma sessão e um máximo de 6 sessões, sendo a mediana da dose cumulativa correspondente a 100 mg/m², com um mínimo de 25 mg/m² e um máximo de 150 mg/m².

O protocolo definido foi interrompido quando o valor de creatinina sérica e/ou de ureia se encontrava acima do limite superior de referência, de forma significativa; quando não existia evolução favorável para o paciente, considerando os riscos; ou por fim quando o animal não voltava a comparecer à consulta. Em dez animais (gatos 1, 2, 3, 4, 6, 9, 10, 12 e 13) o protocolo foi interrompido devido à ocorrência de azotémia durante o tratamento. Já quatro animais (gatos 5, 11, 15, 16) interromperam o protocolo devido à decisão dos proprietários (desaparecimento ou discordância). Por sua vez, o animal 7 foi submetido à eutanásia face à degradação da qualidade de vida, o que impossibilitou a continuação do protocolo. Em dois animais (gatos 8 e 14) não se observou evolução clínica favorável, pelo que foi realizada uma avaliação de risco advindo daí a decisão do médico veterinário assistente de suspender o protocolo.

3.3. Nefrotoxicidade

Uma vez que os intervalos de referência para os valores de creatinina e ureia séricas eram diversos e de forma a uniformizar os resultados para análise, os valores obtidos nos animais foram classificados de acordo com os critérios do VCOG-CTCAE (anexo 3).

A descrição generalizada da ocorrência de azotemia encontra-se na tabela 7, com posterior descrição pormenorizada dos eventos. Em resumo, ocorreram eventos adversos (ambos os parâmetros) de grau 1 em 57% (16/28) dos gatos, e de grau 2 em 11% (3/28) dos gatos. Apenas um animal (gato 5) desenvolveu grau 3 de ureia (4%; 1/28), e outro (gato 20) (4%; 1/28) desenvolveu eventos adversos de grau 4. É de salientar que no mesmo animal podem ocorrer os dois tipos de eventos adversos (um de creatinina e outro de ureia) com graus diferentes e a ocorrência dos eventos adversos pode repetir-se no mesmo animal embora em diferentes sessões (gatos 9, 19 e 28)

No geral, a incidência de azotemia, em valores considerados clinicamente significativos para interromper o protocolo, foi de 61% (17/28).

Tabela 7 - Descrição geral da ocorrência de azotemia.

Dose cum (mg/m ²)	#Total gatos	#Total gatos azotêmicos	% Gatos com azotemia	#Gatos Grau 1		#Gatos Grau 2		#Gatos Grau 3		#Gatos Grau 4	
				C	U	C	U	C	U	C	U
25	28	4	14	4	2	1	-	-	-	-	-
50	24	2	8	2	1	-	-	-	1	-	-
75	20	2	10	3	2	-	-	-	-	-	-
100	17	2	12	2	1	-	-	-	-	-	-
125	12	5	42	2	2	-	1	-	-	1	1
150	2	2	100	1	1	-	1	-	-	-	-
TOTAL	28	17	61	14	9	1	2	-	1	1	1

Cum – cumulativa; # - número; C – creatinina sérica; U – ureia sérica.

Verificou-se que previamente à primeira sessão de doxorubicina, nenhum animal apresentou valores de creatinina sérica alterados, no entanto 11% (3/28) apresentaram valores de ureia alterados, classificados em grau 1. Apesar de estes resultados poderem ser considerados indicativos de azotemia, tal não foi impeditivo para a continuação do tratamento.

Após a primeira sessão, 14% (4/28) dos animais apresentaram manifestação de eventos adversos de grau 1, em relação à creatinina sérica, sendo que metade (7%; 2/28) desses apresentou aumento de ureia, classificado em grau 1. Dois dos animais (gatos 8 e 19) apresentaram azotemia ligeira, pelo que, por decisão clínica, foi permitida a continuação do tratamento. Ainda após a primeira sessão, apenas um gato (3%) desenvolveu aumento de

creatinina, classificado em grau 2. Assim, apenas 14% gatos (4/28) interromperam o protocolo após a primeira sessão devido à ocorrência de azotemia significativa.

Já após a segunda sessão, um animal (gato 6) (4%; 1/24) apresentou valores de ureia de grau 1 e outro (gato 9) (4%; 1/24) desenvolveu grau 1 de creatinina. Neste último, foi administrado fluidoterapia, de modo a permitir realizar mais uma sessão. Apesar da decisão do proprietário de interromper o protocolo após a segunda sessão, no gato 5 foi detectado, numa avaliação posterior, o desenvolvimento de azotemia, com grau 1 de creatinina e grau 3 de ureia.

Após a terceira sessão, três animais (gatos 9, 10 e 28) (15%; 3/20) apresentaram valores de creatinina de grau 1, embora por decisão clínica, apenas o gato 28 tenha continuado o protocolo. Já dois animais (gatos 9 e 19) apresentaram grau 1 de ureia (10%; 2/20), no entanto o gato 19 continuou o protocolo. Assim, nesta fase, apenas os gatos 9 e 10 (10%; 2/20) interromperam o protocolo devido a azotemia significativa.

Após a quarta sessão, 2 gatos (12%; 2/17) apresentaram valores de creatinina de grau 1, sendo que um deles (6%; 1/17) desenvolveu igualmente grau 1 de ureia. Ambos interromperam o protocolo.

Após a quinta sessão, dois animais (gatos 17 e 18) (20%; 2/10) desenvolveram grau 1 de creatinina, sendo que o gato 17 (10%; 1/10) desenvolveu grau 2 de ureia. No entanto, um animal (gato 20) (16%; 1/12) apresentou valores de creatinina e ureia de grau 4. E, dois animais (gatos 19 e 21) (20%) desenvolveram grau 1 de ureia. Assim, 5 animais desenvolveram azotemia após terminar a quinta sessão.

Dos dois animais (gatos 27 e 28) que realizaram 6 sessões apenas o primeiro (50%; 1/2) desenvolveu grau 1 de ureia, após o fim da sexta sessão. O gato 28 só reapareceu cerca de 12 meses após a última sessão para avaliar os valores de creatinina e ureia, que mesmo assim foram incluídos no estudo. Nesta altura, animal possuía grau 1 de creatinina e grau 2 de ureia. Ambos os gatos foram considerados azotêmicos para efeitos de análise.

No geral, o aumento ligeiro de ureia, mesmo classificado como grau 1, antes ou após uma sessão com doxorrubicina, não foi impeditivo da continuação do protocolo em três animais (gatos 3, 5 e 19). O mesmo se passou em relação aos valores de creatinina noutros três animais (gatos 8, 9 e 28).

Quanto à influência da dose no desenvolvimento de azotemia verificou-se a presença deste evento em cerca de 50% dos animais expostos a uma dose cumulativa de 125 mg/m². No entanto, a azotemia também ocorre a doses cumulativas bastante inferiores.

Apesar da diferença nos intervalos de referência, os dados obtidos por animal estão, na sua maioria, correlacionados, ou seja dentro dos mesmos intervalos, possibilitando a sua

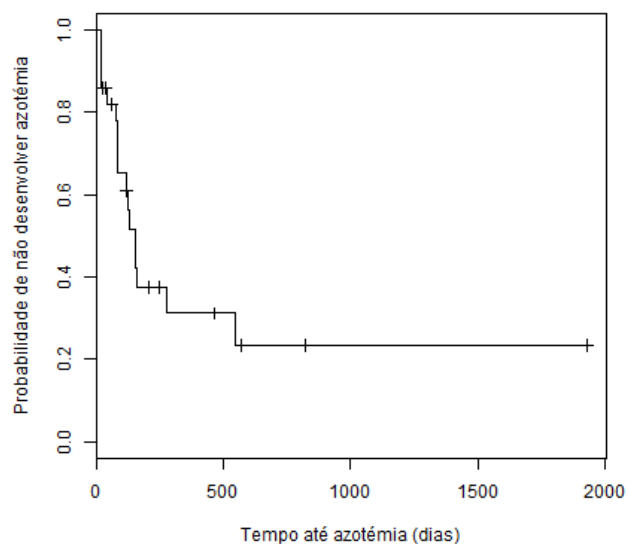
comparação. Pelo teste de Shapiro-Wilk, os valores iniciais de creatinina foram considerados como tendo uma distribuição normal ($n=24$, $P=0,149$), no entanto os valores finais de creatinina ($n=26$; $P=0,0000034$), de ureia iniciais ($n=24$; $P=0,036$) e de ureia finais ($n=25$; $P=0,0000022$), não apresentaram uma distribuição normal. Apesar de, apenas o primeiro parâmetro ser normal, utilizou-se o teste para dados não paramétricos para todos os valores. Existe uma diferença estatisticamente significativa entre os valores iniciais e finais de creatinina sérica ($P=0,002$) e entre os valores iniciais e finais de ureia ($P=0,018$) (tabela 8).

Tabela 8 - Comparação de valores iniciais e finais de creatinina e ureia séricas.

		Mediana	N	p
Creatinina (mg/dL)	inicial	1,52 ± 0,522	24	0,002
	final	1,88 ± 0,782	26	
Ureia (mg/dL)	inicial	37,7 ± 20,60	24	0,018
	final	51,9 ± 45,20	25	

No gráfico 1 apresenta-se a curva de Kaplan-Meier para estimar a mediana do TA, sendo esta a probabilidade de se desenvolver azotemia em 50% da população. A mediana encontrada foi de 155 dias. Ou seja, a mediana de dias até ao desenvolvimento de azotemia, após a administração de doxorubicina nos gatos estudados, foi de 155 dias, aproximadamente 5 meses.

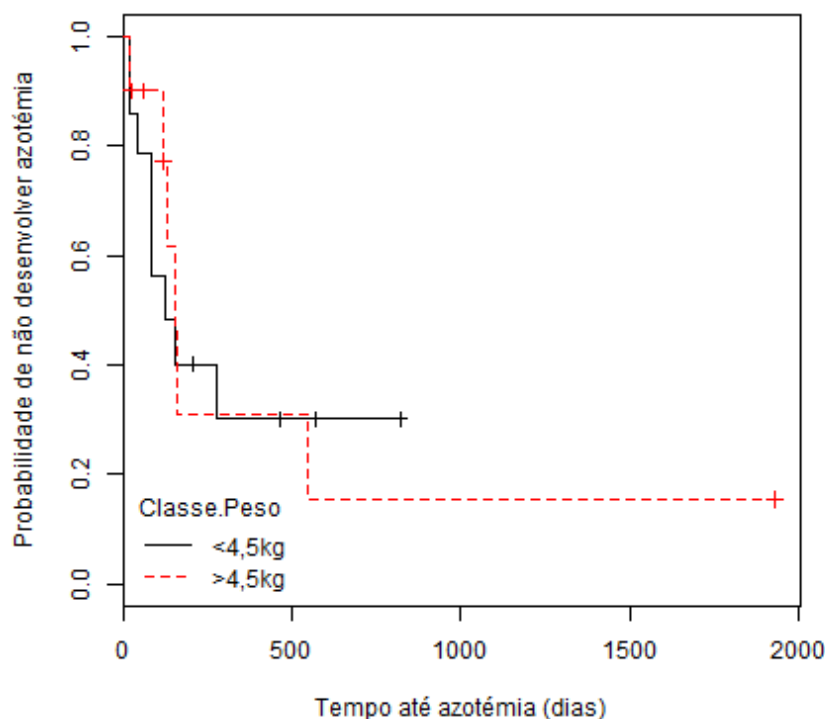
Gráfico 1 - Curva de Kaplan-Meier para os 28 gatos submetidos à administração de doxorubicina.



A censura dos dados ocorreu em quatro animais devido à eutanásia, antes do desenvolvimento de azotemia (gatos 7, 14, 23 e 26); em seis animais (gatos 8, 11, 15, 16, 22 e 24) devido à interrupção do seu seguimento, por motivos desconhecidos. Apenas um animal (gato 25) foi censurado por se encontrar vivo e sem ocorrência de azotemia desde o início do tratamento.

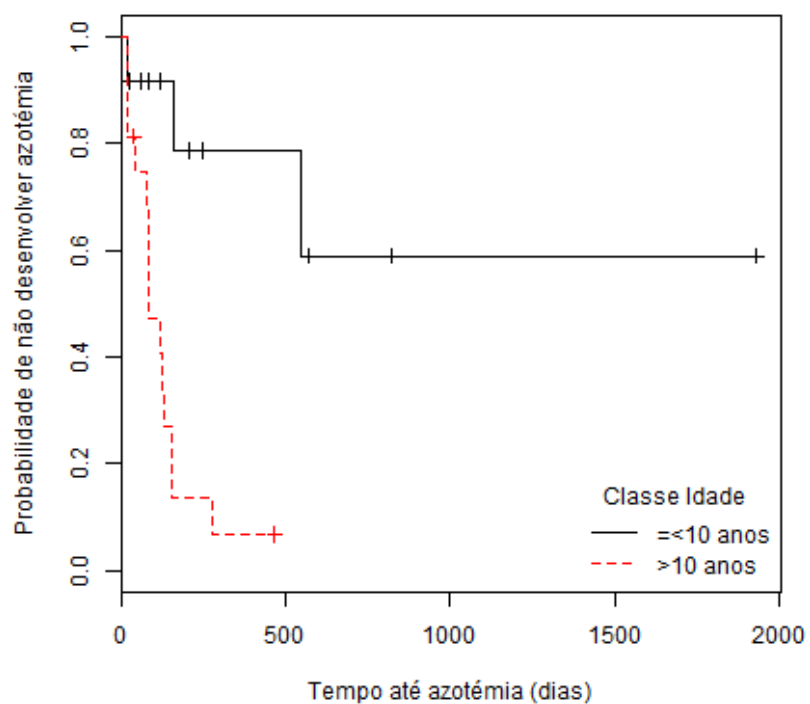
A influência do peso vivo no TA foi também avaliada. Para o efeito, realizou-se a comparação entre duas curvas após a separação da amostra populacional em dois grupos, uma amostra de 14 gatos com menos de 4,5 kg, e outra de 10 gatos com mais de 4,5 kg (gráfico 2). Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa ($P= 0,912$) entre o TA destas duas amostras, respectivamente 123 dias e 155 dias.

Gráfico 2 - Curvas de Kaplan-Meier para as classes de peso <4,5 kg e >4,5 kg; $p = 0,912$



Ainda para avaliar a influência da idade no tempo até azotémia compararam-se as curvas de Kaplan-Meier (gráfico 3) da amostra com idade inferior ou igual a 10 anos (12 gatos), e da amostra com idade superior a 10 anos (16 gatos). Neste caso, foi possível identificar uma diferença estatisticamente significativa ($P=0,000682$) no TA para as duas classes etárias.

Gráfico 3 - Curva de Kaplan-Meier para as classes etárias ≤ 10 anos e >10 anos; $p = 0,000682$



A análise das histórias clínicas obtidas permitiu observar a persistência da azotemia em pelo menos 11 animais, com consequente desenvolvimento de DRC, ou seja, pelo menos 39% dos gatos sujeitos ao protocolo com doxorrubicina desenvolveram “à posteriori” lesão renal crônica progressiva.

4. Discussão

Os eventos adversos associados à administração de doxorubicina têm vindo a ser estudados tanto em gatos saudáveis como em gatos com neoplasias. A utilização de doxorubicina em gatos saudáveis começou a ser estudada por Henness et al. (1977), não sendo ultrapassadas as doses cumulativas de 60 mg/m². O autor não reportou toxicidade significativa para além de neutropénia ligeira e alopecia. Mais tarde, Cotter et al. (1985) atingiram doses cumulativas entre 130 e 320 mg/m² em gatos com neoplasias, tendo 80% destes animais falecido devido a doença renal crónica, num espaço de 4 a 7 meses. Também O'Keefe e Schaeffer (1992) e O'Keefe et al. (1993) estudaram a toxicidade hematológica e sistémica da doxorubicina em gatos saudáveis, atingindo doses cumulativas de 300 mg/m², tendo 50% dos gatos desenvolvido azotémia. Assim e desde cedo, a possível insuficiência renal causada pela administração de doxorubicina tem sido uma limitação à utilização deste fármaco em felinos.

Como tal, este estudo focou-se na avaliação da ocorrência deste evento adverso na amostra populacional felina submetida a protocolos únicos com este fármaco, no HEV-FMV. Inicialmente, os protocolos estipulados visavam a realização da administração de doxorubicina em 5 a 6 sessões. No entanto apenas 43% dos animais atingiram esse objectivo, sendo a principal razão para interrupção dos tratamentos a ocorrência de azotémia significativa durante o tratamento. Apesar da ocorrência de azotémia em seis animais (gatos 3, 5, 8, 9, 19 e 28), estes foram autorizados a prosseguir o tratamento (anexo 3) pelo médico veterinário assistente, enquanto o benefício obtido não fosse ultrapassado pelo eventual risco. Em alguns casos, a fluidoterapia foi instituída empiricamente na tentativa de minimizar o risco, no entanto são necessários estudos sobre o seu efeito protector aquando a administração de doxorubicina.

Também em consideração sobre a alteração destes valores, estão as variações dos valores de ureia e creatinina sérica dependentes de outros factores para além da toxicidade renal causada pelo fármaco. A concentração de creatinina sérica depende, para além da capacidade de filtração renal, da massa muscular do animal, estando diminuída no caso de este se encontrar caquético. Pode ainda depender da qualidade da amostra e da presença de diferentes compostos no sistema, como por exemplo a hemólise da amostra e da presença de antibióticos ou compostos endógenos (glucose, bilirrubina, cetoácidos, lípidos) (Yerramilli et al., 2016). Por sua vez, a concentração de ureia, não é tão bom indicador da TFG como a creatinina, uma vez que a sua produção é influenciada por diversos factores extra-renais, como a função hepática, a diminuição da perfusão renal (desidratação, insuficiência cardíaca), o aumento da ingestão proteica, o aumento do catabolismo proteico, a reabsorção de proteínas sanguíneas após hemorragia gastrointestinal, o tempo entre a ingestão de alimento e a colheita de sangue e ainda a utilização de fármacos (por exemplo os corticosteróides)

(Lamb & Price, 2008; Polzin, 2017). Em situações pré-renais, a concentração de creatinina sérica poderá estar normal, enquanto que em situações pós-renais ambos os parâmetros estão aumentados, estando a ureia normalmente mais elevada que a creatinina (Lamb & Price, 2008).

A decisão de administrar a dose de 25 mg/m² no tratamento baseou-se em diversos estudos que a apontam como uma dose equilibrada em termos de efeitos citotóxicos tumorais e de toxicidade sistémica e hematológica (O'Keefe et al., 1993; Reiman et al., 2008). Apesar de alguns autores defenderem a utilização de uma dose baseada no peso corporal e não na BSA em cães pequenos e gatos (Arrington, Legendre, Tabeling, & Frazier, 1994), a decisão de qual utilizar cabe ao médico veterinário assistente. No estudo de Arrington et al. (1994), os animais mais pequenos, aos quais se administrou uma dose de 30 mg/m², apresentaram valores de C_{máx}, AUC, tempo de semi-vida, volume de distribuição e sinais clínicos de toxicidade mais elevados, quando comparados com animais mais pesados. Quando se converte para peso corporal (mg/kg) a dose de 25 mg/m² podemos observar que gatos com um peso menor, são realmente submetidos a uma dose maior quando esta é convertida para peso corporal. No entanto, a toxicidade renal não se demonstrou mais significativa ($P= 0,912$) em gatos mais pesados (>4,5 kg), pois não houve diferenças relevantes no TA entre as amostras seleccionadas. Esta observação também foi realizada por Reiman et al. (2008), ao comparar os eventos adversos resultantes da aplicação de um protocolo de 1 mg/kg e um protocolo de 25 mg/m² em gatos portadores de tumores, afirmando que não existe um risco aumentado de ocorrência de toxicidade na utilização do segundo protocolo quando comparado com o primeiro. No entanto, é necessário notar que, no segundo protocolo, foi realizada fluidoterapia subcutânea e que pode, ainda, existir influência dos diferentes tipos de tumores.

Outro factor que pode também influenciar a susceptibilidade do tecido renal à doxorrubicina, é a idade. A escolha de grupos baseou-se no consenso entre a AAFP e a AAHA (Vogt et al., 2010), em que a partir da idade sénior (mais de 10 anos), incluindo os animais geriátricos, é recomendado um exame clínico mais frequente, incluindo testes laboratoriais. A DRC em gatos séniores e geriátricos tem vindo a ser diagnosticada com maior frequência nos últimos anos, e foi verificada uma prevalência total de 50% na amostra populacional estudada por Marino et al. (2014). Este autor reporta a prevalência de DRC, de diferentes estadios, em grupos de gatos de diferentes idades, sendo notório o aumento de prevalência com o aumento de idade, tal como o estadio. A prevalência de DRC em gatos geriátricos duplicou em comparação a gatos séniores (Marino et al., 2014). Ainda, Marino et al. (2014) reporta uma prevalência de 14% de gatos com estadio 1 da IRIS, ou seja, sem sinais de azotémia, no entanto diagnosticados pela presença de proteinúria, glicosúria com normoglicémia, isostenúria (1,008-1,012), urina inapropriadamente concentrada (1,013-1,035) ou evidência

imagiológica de DRC. A idade média destes animais foi de 9,4 anos, semelhante ao presente estudo. Uma observação importante no contexto do presente estudo é a possível presença de gatos com estadio 1 da IRIS, sujeitos à administração de doxorrubicina, agravando a doença renal subjacente, não diagnosticada. Como tal, uma limitação de grande relevância no presente estudo, poderá ter sido o subdiagnóstico de gatos em estadio 1 de DRC. Para avaliar a influência da idade, observou-se que em gatos com idade superior a 10 anos, o TA foi significativamente menor ($P=0,000682$), sugerindo a maior susceptibilidade destes gatos à lesão renal ou agravamento de lesão subclínica.

Os valores de creatinina e ureia aumentaram significativamente ($P=0,002$; $P=0,018$) no decorrer do estudo, respectivamente de 1,52 mg/dL para 1,88 mg/dL e de 37,7 mg/dL para 51,9 mg/dL. No grupo B do estudo de Reiman et al. (2008), ou seja, gatos submetidos a uma dose de 25 mg/m² de doxorrubicina, os valores medianos observados foram para a creatinina pré e pós tratamento, respectivamente 1,25 mg/dL e 1,4 mg/dL, e para a ureia pré e pós tratamento, respectivamente 24,5 mg/dL e 22 mg/dL, o que comparativamente com os obtidos no estudo agora apresentado são mais baixos. No entanto, a dose cumulativa mediana atingida no presente estudo foi superior à de Reiman et al., 100 mg/m² *versus* 61,3 mg/m², e para além de que os animais em estudo não receberam fluidoterapia por via subcutânea.

No geral, a presença de azotémia verificou-se em 61% dos animais, durante ou após o tratamento, sendo que na sua maioria esta foi classificada como de grau 1 ou leve (Veterinary and Comparative Oncology Group, 2016), valor que é superior ao 16,7% encontrado por Reiman et al. (2008). Também Poirier et al. (2002), observaram a presença de azotémia em 13% dos gatos que estudaram, com um TA de aproximadamente 8 meses, valor superior ao observado no presente estudo, aproximadamente 5 meses. No estudo de Poirier et al., foi notada uma maior incidência de azotémia em gatos submetidos a uma dose de 1,5 mg/kg de doxorrubicina, encapsulada em lipossomas, apesar de esta ter ocorrido também a uma dose de 1 mg/kg. Uma possível hipótese para a diferença entre a incidência de azotémia e o TA para com o estudo presente, é a observação de que a maior parte dos gatos neste estudo foram sujeitos a doses superiores a 1,5 mg/kg (anexo 4). Barber et al. (2000) também reportam uma incidência de azotémia de 8% em gatos com neoplasias e submetidos a protocolo combinado entre ciclofosfamida e doxorrubicina, no entanto especifica que este valor poderá ser subestimado devido à falta de seguimento e monitorização dos animais para a potencial nefrotoxicidade devido à doxorrubicina. A mesma situação se verificou no estudo de Kristal et al. (2001), que apenas reporta a incidência de azotémia em 5% dos gatos submetidos a protocolo único com doxorrubicina, com um TA de aproximadamente 7 meses, no entanto a monitorização renal apenas se realizou em 68% dos animais e não foi realizada após cada sessão de quimioterapia, podendo assim este valor estar subestimando.

O valor de incidência de azotémia obtido no estudo agora apresentado é superior ao valor obtido nos estudos já referidos (61% *versus* 50%, 16,7%, 13%, 8%, 5%), o que pode ser resultado da administração de uma dose individual maior ou uma dose cumulativa maior, à ausência de administração de fluidoterapia concomitante e a uma mediana de tempo de seguimento maior (235,5 dias *versus* aproximadamente 120 dias em Reiman et al. (2008)). Uma hipótese para explicar esta ocorrência será a subdetecção de doença renal subclínica pela pouca sensibilidade para detecção de lesão renal precoce dos parâmetros utilizados, que terá como consequência a administração de doxorubicina em gatos com maior risco de desenvolver nefrotoxicidade pela doxorubicina. Apesar de alguns gatos conseguirem manter a capacidade de concentrar urina (Polzin, 2017), a análise da DUE auxilia na detecção mais precoce de lesão renal do que apenas a medição de creatinina e ureia séricas, visto representar a insuficiência de 66% da massa renal, comparativamente a 75% (Meuten, 2012).

A expressão clínica de nefrotoxicidade em gatos, associada à administração de doxorubicina, aparenta ser de variação individual, uma vez que nem todos os animais desenvolveram azotémia, e os que desenvolveram tinham sido sujeitos a diferente número de sessões. A observação de uma variação individual também é suportada por O'Keefe et al. (1993). Este facto leva também a colocar em questão a nefrotoxicidade dependente da dose cumulativa. Alguns autores defendem que o desenvolvimento de lesão renal está dependente de um aumento da dose cumulativa, principalmente a partir dos 125 mg/m² (Cotter et al., 1985; O'Keefe et al., 1993). No estudo de Mauldin et al. (1988), apesar de uma combinação com ciclofosfamida, a azotémia foi observada em 12% (2/17) dos gatos, a partir de uma dose cumulativa de 100 mg/m² de doxorubicina, sendo curioso o facto de que 18% (3/17) demonstrou azotémia previamente ao início do tratamento, que se manteve estável com dose cumulativa entre 50 e 100 mg/m². No entanto, foi observado por diferentes autores o desenvolvimento de azotémia com doses cumulativas mais baixas. Assim, a azotémia foi registada com doses cumulativas de 25 a 50 mg/m² (Martano et al., 2005), com uma dose cumulativa de 83 mg/m² (Kristal et al., 2001), com uma mediana de dose cumulativa de 100 mg/m² (Barber et al., 2000) e com uma mediana de dose cumulativa de 61,3 mg/m² (Reiman et al., 2008). Apesar de aproximadamente 50% dos animais do presente estudo terem desenvolvido azotémia com doses cumulativas superiores ou iguais a 100mg/m², não podemos deixar de notar o desenvolvimento da mesma a doses mais baixas, suportando a hipótese de que a nefrotoxicidade pela doxorubicina possa ter uma componente maioritariamente individual, e não apenas dose dependente. Estudos futuros são necessários para abordar a questão colocada, e esclarecer a acção de uma dose cumulativa sobre o tecido renal.

Poucos estudos descrevem alterações histológicas do tecido renal de gatos submetidos à administração de doxorrubicina, contudo existe uma considerável variação de lesões descritas, incluindo nefrite intersticial crónica não supurativa, fibrose intersticial, espessamento da matriz mesangial e vacuolização das células glomerulares. Já as alterações tubulares consistiam em nefrose, dilatação e regeneração tubular, com presença de cilindros hialinos (Cotter et al., 1985; O’Keefe et al., 1993; Poirier et al., 2002). No entanto, os mecanismos pelos quais acontecem estas alterações não se encontram definidos. Várias propostas surgiram para explicar a nefrotoxicidade induzida pela doxorrubicina, estudada amplamente nos roedores. Primeiramente, esta nefropatia tem um carácter crónico, com o desenvolvimento de síndrome nefrótico e de esclerose glomerular e intersticial, sendo considerada um modelo estável e reprodutível em roedores, para o estudo da doença renal crónica (Bertani et al., 1982, 1983; Magnasco et al., 2008; Okuda et al., 1986; Y. Wang et al., 2000). Entre os principais mecanismos responsáveis por esta nefrotoxicidade estão o desenvolvimento de RLOs, com consequente perda de integridade e função da membrana glomerular (Deman et al., 2001; Kaur et al., 2012; Kramer, 2006; Mimnaugh et al., 1986; Mohajeri & Sahebkar, 2018; Morgan et al., 1998; Vogtländer et al., 2006), e outras alterações estruturais como a degeneração dos podócitos ou GVEC (Bertelli et al., 1991; Coers et al., 1994), a necrose tubular (Zhang et al., 1996), a glomerulosclerose (Li et al., 2006; Paczek et al., 1992), a alteração da síntese proteica glomerular (Jeansson et al., 2009; Morgan et al., 1998), a activação do sistema complemento (Turnberg et al., 2006), a infiltração inflamatória por macrófagos e linfócitos (Y. M. Wang et al., 2015), a apoptose das células mesangiais glomerulares (Miller, 2006) e alteração do SRAA (Ibrahim et al., 2009; Yasuda et al., 2010). Infelizmente, no estudo presente apenas se realizou exame *post mortem* de um animal, em que na avaliação macroscópica apresentava atrofia bilateral renal e microscopicamente ambos os rins apresentavam lesões de glomerulosclerose discreta.

Tendo em conta o previamente descrito, a doxorrubicina tem acção sobre diversos segmentos renais, entre os quais o glomérulo, estrutura que não possui capacidade regenerativa, e as células tubulares, com elevada capacidade regenerativa desde que não exista lesão da sua membrana basal (Meuten, 2012). Em conjunto com a restante bibliografia mencionada, coloca-se a questão se a lesão crónica e irreversível que se observou em, pelo menos, 39% dos animais deste estudo, a DRC, é consequência directa da exposição à doxorrubicina, ou se os animais já estariam predispostos ou apresentariam outros factores de risco para o desenvolvimento de DRC. Esta resposta fisiopatológica do rim à agressão é apenas especulada como sendo consequência directa da administração de doxorrubicina em gatos, carecendo de futuros estudos.

Neste estudo, enfrentaram-se diversas limitações, incluindo o reduzido tamanho da amostra, a ausência de um grupo de controlo e a natureza retrospectiva, e como tal, dependente de registo clínicos, por vezes incompletos devido a falta de preenchimento ou desaparecimento do animal. A natureza retrospectiva também implica uma selecção dos animais, sem que exista o acaso, necessário para um estudo o mais fiável possível. Os resultados poderão também ter sido influenciados pelos diversos factores variáveis entre animal, como o tipo de tumor, a idade e o estado metabólico, e factores não dependentes do animal como o seguimento irregular dos pacientes, com intervalos irregulares entre avaliações e administrações, e falta de quantificação de certos parâmetros analíticos. Uma hipótese a considerar ao observar um aumento da incidência da azotémia nos gatos deste estudo, comparado aos estudos já referidos, será a ausência de detecção precoce de uma possível doença renal subclínica, uma vez que os parâmetros analisados têm pouca sensibilidade para esta detecção precoce. Como hipótese para tentar ultrapassar estas limitações, sugere-se a realização de um estudo prospectivo em que se inclua uma população homogénea (idade, peso, tipo de neoplasia, ausência de co-morbilidades), um grupo controlo, com um seguimento regular e uma quantificação de parâmetros analíticos alargada, incluindo marcadores de lesão renal precoce como o SDMA, ou outros marcadores que permitam detectar gatos em estadio 1 da IRIS, como a proteinúria/microalbuminúria, a DUE, a glucosúria normoglicémia, ou ainda a imagiologia. Ainda seria interessante a caracterização da nefrotoxicidade em gatos, como por exemplo através da realização de histopatologia por biópsia ou necrópsia.

5. Conclusão

Concluindo, é difícil provar que a disfunção renal progressiva em gatos geriátricos, com neoplasias, com possível doença renal não relacionada, se deva directamente à administração de doxorrubicina, no entanto é perceptível o risco de uma lesão irreversível, assim é necessária precaução no uso deste fármaco em felinos e uma monitorização renal constante. Em caso de azotémia, é imprescindível a análise de risco da continuação do protocolo, para avaliação dos riscos e benefícios.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Anan, H. H., Zidan, R. A., Shaheen, M. A., & Abd- El Fattah, E. A. (2016). Therapeutic efficacy of bone marrow derived mesenchymal stromal cells versus losartan on adriamycin-induced renal cortical injury in adult albino rats. *Cytotherapy*, 18(8), 970–984. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2016.05.004>
- Andreev, E., Koopman, M., & Arisz, L. (1999). A rise in plasma creatinine that is not a sign of renal failure: which drugs can be responsible? *Journal of Internal Medicine*, 246(3), 247–252. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2796.1999.00515.x>
- Arcamone, F., Cassinelli, G., Fantini, G., Grein, A., Orezzi, P., Pol, C., & Spalla, C. (1969). Adriamycin, 14-hydroxydaunomycin, a new antitumor antibiotic from *S. peucetius* var. *caesius*. [abstract]. *Biotechnology and Bioengineering*, XI(6), 1101–1110.
- Argyle, D. J. (2013). Molecular/Targeted Therapy of Cancer. Em S. J. Withrow, D. M. Vail, & R. L. Page, *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5th ed., pp. 215–244). Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Arrington, K. A., Legendre, A. M., Tabeling, G. S., & Frazier, D. L. (1994). Comparison of body surface area-based and weight-based dosage protocols for doxorubicin administration in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, 55(11), 1587–1592.
- Ayla, S., Seckin, I., Tanriverdi, G., Cengiz, M., Eser, M., Soner, B. C., & Oktem, G. (2011). Doxorubicin Induced Nephrotoxicity: Protective Effect of Nicotinamide. *International Journal of Cell Biology*, 2011, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2011/390238>
- Barber, L., Sorenmo, K., Cronin, K., & Shofer, F. (2000). Combined doxorubicin and cyclophosphamide chemotherapy for nonresectable feline fibrosarcoma. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 36(5), 416–421. <https://doi.org/10.5326/15473317-36-5-416>
- Bertani, T., Poggi, A., Pozzoni, R., Delaini, F., Sacchi, G., Thoua, Y., ... Donati, M. B. (1982). Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events [abstract]. *Laboratory Investigation*, (46), 16–23.
- Bertani, T., Rocchi, G., Sacchi, G., & Remuzzi, G. (1983). Adriamycin induced chronic proteinuria: A new model of glomerular focal sclerosis. *Kidney International*, (23), 192.
- Bertazzoli, C., Chieli, T., & Ferni, G. (1972). Chronic toxicity of Adriamycin: A new antineoplastic antibiotic. *Toxicology and Applied Pharmacology*, (21), 287–301.
- Bertelli, R., Ginevri, F., Gusmano, R., & Ghiggeri, G. M. (1991). Cytotoxic effect of adriamycin and agarose-coupled adriamycin on glomerular epithelial cells: Role of free radicals. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal*, 27(10), 799–804. <https://doi.org/10.1007/BF02631246>
- Bewick, V., Cheek, L., & Ball, J. (2004). Statistics review 12: Survival analysis. *Critical Care*, 8, 389–394.
- Bray, J., & Polton, G. (2016). Neoadjuvant and adjuvant chemotherapy combined with anatomical resection of feline injection-site sarcoma: results in 21 cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, 14(2), 147–160. <https://doi.org/10.1111/vco.12083>

- Chen, C.-H., Lin, H., Hsu, Y.-H., Sue, Y.-M., Cheng, T.-H., Chan, P., & Chen, T.-H. (2006). The protective effect of prostacyclin on adriamycin-induced apoptosis in rat renal tubular cells. *European Journal of Pharmacology*, 529(1–3), 8–15. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2005.10.057>
- Coers, W., Van der Horst, M. L., Huitema, S., & Weening, J. J. (1994). Puromycin aminonucleoside and adriamycin disturb cytoskeletal and extracellular matrix protein organization, but not protein synthesis of cultured glomerular epithelial cells [abstract]. *Experimental nephrology*, 2(1), 40–50.
- Cotter, S. M., Kanki, P. J., & Simon, M. (1985). Renal disease in five tumor-bearing cats treated with Adriamycin. *Journal of the American Animal Hospital Association*, (21), 405–409.
- Cummings, J., & McArdle, C. S. (1986). Studies on the in vivo disposition of adriamycin in human tumours which exhibit different responses to the drug. *British Journal of Cancer*, 53(6), 835–838. <https://doi.org/10.1038/bjc.1986.141>
- Cunha, S. C., Corgozinho, K. B., Souza, H. J., Silva, K. V., & Ferreira, A. M. R. (2015). Adjuvant chemotherapy with mitoxantrone for cats with mammary carcinomas treated with radical mastectomy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(12), 1000–1004. <https://doi.org/10.1177/1098612X14567159>
- Deguchi, E., & Akuzawa, M. (1997). Renal Clearance of Endogenous Creatinine, Urea, Sodium, and Potassium in Normal Cats and Cats with Chronic Renal Failure. *Journal of Veterinary Medical Science*, 59(7), 509–512. <https://doi.org/10.1292/jvms.59.509>
- Deman, A., Ceyssens, B., Pauwels, M., Zhang, J., Houte, K. V., Verbeelen, D., & Van den Branden, C. (2001). Altered antioxidant defence in a mouse adriamycin model of glomerulosclerosis. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 16(1), 147–150. <https://doi.org/10.1093/ndt/16.1.147>
- Dobson, J. M., & Lana, S. E. (2010). Principles of chemotherapy. Em J. M. Dobson & B. D. X. Lascelles (Eds.), *BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology* (3th ed., pp. 60–79). Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Egger, C., Cannet, C., Gérard, C., Debon, C., Stohler, N., Dunbar, A., ... Beckmann, N. (2015). Adriamycin-induced nephropathy in rats: Functional and cellular effects characterized by MRI: Adriamycin-Induced Nephropathy in Rats. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 41(3), 829–840. <https://doi.org/10.1002/jmri.24603>
- Eksborg, S., Strandler, H.-S., Edsmyr, F., Naslund, I., & Tahvanainen, P. (1985). Pharmacokinetic study of IV infusions of adriamycin. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 28(2), 205–212. <https://doi.org/10.1007/BF00609693>
- Elliott, J., & Finotello, R. (2018). A dexamethasone, melphalan, actinomycin-D and cytarabine chemotherapy protocol as a rescue treatment for feline lymphoma. *Veterinary and Comparative Oncology*, 16(1), E144–E151. <https://doi.org/10.1111/vco.12360>
- El-Sayed, E.-S. M., Mansour, A. M., & El-Sawy, W. S. (2017). Alpha lipoic acid prevents doxorubicin-induced nephrotoxicity by mitigation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rats: EL-SAYED, MANSOUR, AND EL-SAWY. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 31(9), e21940. <https://doi.org/10.1002/jbt.21940>

- Frimberger, A. E., & Moore, A. S. (2017). Chapter 339: Principles and Practice of Chemotherapy. Em S. J. Ettinger, Feldman Edward C., & E. Côté, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8th ed., pp. 4930–4939). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Gagnon, J., Dervisis, N. G., & Kitchell, B. E. (2012). Treatment-related toxicities in tumor-bearing cats treated with temozolomide alone or in combination with doxorubicin: a pilot assessment. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(8), 560–565.
- Gewirtz, D. (1999). A critical evaluation of the mechanisms of action proposed for the antitumor effects of the anthracycline antibiotics adriamycin and daunorubicin. *Biochemical Pharmacology*, 57(7), 727–741. [https://doi.org/10.1016/S0006-2952\(98\)00307-4](https://doi.org/10.1016/S0006-2952(98)00307-4)
- Gurel, A., Atli, H., Kaya, N., Onalan, E., Kuloglu, T., & Aygen, B. (2015). Effects of vitamin D on kidney histology and trpv1 channels in doxorubicin-induced nephropathy. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, 8(8), 13548–13555.
- Gustafson, D. L., & Page, R. L. (2013). Cancer Chemotherapy. Em S. J. Withrow, D. M. Vail, & R. L. Page, *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5th ed., pp. 157–179). Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Gwaltney-Brant, S. M. (2012). Renal Toxicity. Em R. C. Gupta, *Veterinary toxicology: basic and clinical principles* (2^a, pp. 264–277). Amsterdam ; Boston: Elsevier : Academic Press.
- Hahn, K. A., Frazier, D. L., Cox, S. K., & Legendre, A. M. (1997). Effect of infusion regime on doxorubicin pharmacokinetics in the cat [abstract]. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 33(5), 427–433.
- Hall, J. A., Yerramilli, M., Obare, E., Yerramilli, M., & Jewell, D. E. (2014). Comparison of Serum Concentrations of Symmetric Dimethylarginine and Creatinine as Kidney Function Biomarkers in Cats with Chronic Kidney Disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28(6), 1676–1683. <https://doi.org/10.1111/jvim.12445>
- Henness, A. M., Theilen, G. H., & Lewis, J. P. (1977). Clinical investigation of doxorubicin, daunomycin, and 6-thioguanine in normal cats. *American Journal of Veterinary Research*, (98), 521–524.
- Henry, C. J., Jr, W. G. B., & Royer, N. S. (1994). Hematological and clinical responses to combined mitoxantrone and cyclophosphamide administration to normal cats. *Canadian Veterinary Journal*, (35), 706–708.
- Hussein, A. M., Eldosoky, M., Handhale, A., Elserougy, H., Sarhan, M., Sobh, M. A., ... El Nashar, E. M. (2016). Effects of long-acting erythropoietin analog darbepoetin- α on adriamycin-induced chronic nephropathy. *International Urology and Nephrology*, 48(2), 287–297. <https://doi.org/10.1007/s11255-015-1171-1>
- Ibrahim, M. A., Ashour, O. M., Ibrahim, Y. F., EL-Bitar, H. I., Gomaa, W., & Abdel-Rahim, S. R. (2009). Angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin AT1-receptor antagonism equally improve doxorubicin-induced cardiotoxicity and nephrotoxicity. *Pharmacological Research*, 60(5), 373–381. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2009.05.007>
- IDEXX. (2016). The International Renal Interest Society adds the IDEXX SDMA Test to chronic kidney disease guidelines. Obtido 12 de Abril de 2018, de <https://www.idexx.com/en/veterinary/reference-laboratories/sdma/sdma-iris/>

- International Renal Interest Society, I. R. I. S. (2016). IRIS CKD Staging in cats. Obtido 12 de Abril de 2018, de www.iris-kidney.com/
- Jeansson, M., Bjorck, K., Tenstad, O., & Haraldsson, B. (2009). Adriamycin Alters Glomerular Endothelium to Induce Proteinuria. *Journal of the American Society of Nephrology*, 20(1), 114–122. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007111205>
- Jeglum, K., deGuzman, E., & Young, K. (1985). Chemotherapy of advanced mammary adenocarcinoma in 14 cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, (187), 157–160.
- Jepson, R. E. (2016). Current Understanding of the Pathogenesis of Progressive Chronic Kidney Disease in Cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46(6), 1015–1048. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.002>
- Kaur, A., Kaur, M., Sharma, R., & Kumar. (2012). Doxorubicin: a critical review on toxicity. *Journal of Pharmacy Research*, (5), 2890–2895.
- Keizer, H. G., Pinedo, H. M., Schuurhuis, G. J., & Joenje, H. (1990). Doxorubicin (adriamycin): A critical review of free radical-dependent mechanisms of cytotoxicity. *Pharmacology & Therapeutics*, 47(2), 219–231. [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(90\)90088-J](https://doi.org/10.1016/0163-7258(90)90088-J)
- König, H. E., Maierl, J., & Liebich, H.-G. (2004). Urinary system (organa urinaria). Em H. E. König & H.-G. Liebich, *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals* (pp. 365–379). Stuttgart, Germany: Schattauer GmbH.
- Kramer, A. (2006). Induction of Glomerular Heparanase Expression in Rats with Adriamycin Nephropathy Is Regulated by Reactive Oxygen Species and the Renin-Angiotensin System. *Journal of the American Society of Nephrology*, 17(9), 2513–2520. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006020184>
- Kristal, O., Lana, S. E., Ogilvie, G. K., Rand, W. M., Cotter, S. M., & Moore, A. S. (2001). Single Agent Chemotherapy with Doxorubicin for Feline Lymphoma: A Retrospective Study of 19 Cases (1994–1997). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, (15), 125–130.
- Lahoti, S. T., Patel, D., Thekkemadom, V., Beckett, R., & D. Ray, S. (2012). Doxorubicin-Induced In Vivo Nephrotoxicity Involves Oxidative Stress- Mediated Multiple Pro- and Anti-Apoptotic Signaling Pathways. *Current Neurovascular Research*, 9(4), 282–295. <https://doi.org/10.2174/156720212803530636>
- Lamb, E. J., & Price, C. P. (2008). Chapter 21: Creatinine, Urea, and Uric Acid. Em C. A. Burtis, E. R. Ashwood, & E. Bruns (Eds.), *Tietz Fundamentals of clinical chemistry* (6^a, pp. 363–372). Missouri, USA: Saunders/Elsevier.
- Launchbury, P. A., & Habboubi, N. (1993). Epirubicin and doxorubicin: a comparison of their characteristics, therapeutic activity and toxicity. *Cancer Treatment Reviews*, 19(3), 197–228. [https://doi.org/10.1016/0305-7372\(93\)90036-Q](https://doi.org/10.1016/0305-7372(93)90036-Q)
- Lee, V. W., & Harris, D. C. (2011). Adriamycin nephropathy: A model of focal segmental glomerulosclerosis: Adriamycin nephropathy. *Nephrology*, 16(1), 30–38. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2010.01383.x>
- Li, J., Campanale, N. V., Liang, R. J., Deane, J. A., Bertram, J. F., & Ricardo, S. D. (2006). Inhibition of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase and Transforming Growth Factor- β 1/Smad Signaling Pathways Modulates the Development of Fibrosis in Adriamycin-

- Induced Nephropathy. *The American Journal of Pathology*, 169(5), 1527–1540. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2006.060169>
- Magnasco, A., Corselli, M., Bertelli, R., Ibatici, A., Peresi, M., Gaggero, G., ... Ghiggeri, G. M. (2008). Mesenchymal Stem Cells Protective Effect in Adriamycin Model of Nephropathy. *Cell Transplantation*, 17(10–11), 1157–1167. <https://doi.org/10.3727/096368908787236567>
- Marino, C. L., Lascelles, B. D. X., Vaden, S. L., Gruen, M. E., & Marks, S. L. (2014). Prevalence and classification of chronic kidney disease in cats randomly selected from four age groups and in cats recruited for degenerative joint disease studies. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 16(6), 465–472. <https://doi.org/10.1177/1098612X13511446>
- Martano, M., Morello, E., Ughetto, M., Iussich, S., Petterino, C., Cascio, P., & Buracco, P. (2005). Surgery alone versus surgery and doxorubicin for the treatment of feline injection-site sarcomas: a report on 69 cases. *The Veterinary Journal*, 170(1), 84–90. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.04.004>
- Mauldin, G. N., Matus, R. E., Patnaik, A. K., Bond, B. R., & Mooney, S. C. (1988). Efficacy and Toxicity of Doxorubicin and Cyclophosphamide Used in the Treatment of Selected Malignant Tumors in 23 Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 2(2), 60–65. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1988.tb02794.x>
- McGeady, T. A., Quinn, P. J., FitzPatrick, E. S., Ryan, M. T., & Cahalan, S. (2017). *Veterinary embryology* (2nd ed.). West Sussex, UK: John Wiley & Sons Inc.
- McNeill, C. J., Sorenmo, K. U., Shofer, F. S., Gibeon, L., Durham, A. C., Barber, L. G., ... Overley, B. (2009). Evaluation of Adjuvant Doxorubicin-Based Chemotherapy for the Treatment of Feline Mammary Carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 23(1), 123–129. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2008.0244.x>
- Mescher, A. L. (2016). *Junqueira's Basic Histology: Text and Atlas* (14th ed.). New York, USA: McGraw-Hill Education.
- Meuten, D. (2012). Chapter 23: Laboratory Evaluation of Renal Function. Em M. A. Thrall, G. Weiser, R. W. Allison, & T. W. Campbell (Eds.), *Veterinary Hematology and Clinical Chemistry* (2.^a ed., pp. 323–377). John Wiley & Sons Inc.
- Miller, B. (2006). Cyclooxygenase-2 Rescues Rat Mesangial Cells from Apoptosis Induced by Adriamycin via Upregulation of Multidrug Resistance Protein 1 (P-Glycoprotein). *Journal of the American Society of Nephrology*, 17(4), 977–985. <https://doi.org/10.1681/ASN.2005101076>
- Mimnaugh, E. G., Trush, M. A., & Gram, T. E. (1986). A possible role for membrane lipid peroxidation in anthracycline nephrotoxicity. *Biochemical Pharmacology*, 35(23), 4327–4335. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(86\)90713-6](https://doi.org/10.1016/0006-2952(86)90713-6)
- Mohajeri, M., & Sahebkar, A. (2018). Protective effects of curcumin against doxorubicin-induced toxicity and resistance: A review. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 122, 30–51. <https://doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.12.005>
- Morgan, W. A., Kaler, B., & Bach, P. H. (1998). The role of reactive oxygen species in adriamycin and menadione-induced glomerular toxicity. *Toxicology Letters*, (94), 209–215.

- Müller, I., Niethammer, D., & Bruchelt, G. (1998). Anthracycline-derived chemotherapeutics in apoptosis and free radical cytotoxicity (Review). *International Journal of Molecular Medicine*. <https://doi.org/10.3892/ijmm.1.2.491>
- Novosad, C. A., Bergman, P. J., O'Brien, M. G., McKnight, J. A., Charney, S. C., Selting, K. A., ... Gieger, T. L. (2006). Retrospective Evaluation of Adjunctive Doxorubicin for the Treatment of Feline Mammary Gland Adenocarcinoma: 67 Cases. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 42(2), 110–120. <https://doi.org/10.5326/0420110>
- Oberthaler, K. T., Mauldin, E., McManus, P. M., Shofer, S. S., & Sorenmo, K. U. (2009). Rescue therapy with doxorubicin-based chemotherapy for relapsing or refractory feline lymphoma: A retrospective study of 23 cases. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11(4), 259–265. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2008.07.003>
- Ogilvie, G. K., Richardson, R., & Curtis. (1989). Acute and short- term toxicoses associated with the administration of doxorubicin to dogs with malignant tumors. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, (195), 1584–1587.
- Ogilvie, Gregory K, Elmslie, R. E., Salmon, M. D., Ciekot, P. E., & Withrow, S. J. (1993). Toxicoses and efficacy associated with administration of mitoxantrone to cats with malignant tumors. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 202(11), 1839–1845.
- O'Keefe, D. A., & Schaeffer, D. J. (1992). Hematologic Toxicosis Associated with Doxorubicin Administration in Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 6(5), 276–282. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1992.tb00352.x>
- O'Keefe, D. A., Sisson, D. D., Gelberg, H. B., Schaeffer, D. J., & Krawiec, D. R. (1993). Systemic Toxicity Associated With Doxorubicin Administration in Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 7(5), 309–317. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.1993.tb01024.x>
- Okuda, S., Oh, Y., Tsuruda, H., Onoyama, K., Fujimi, S., & Fujishima, M. (1986). Adriamycin-induced nephropathy as a model of chronic progressive glomerular disease. *Kidney International*, 29(2), 502–510. <https://doi.org/10.1038/ki.1986.28>
- Paczek, L., Teschner, M., Schaefer, R. M., Kovar, J., Romen, W., & Heidland, A. (1992). Intraglomerular proteinase activity in adriamycin-induced nephropathy [abstract]. *Nephrology*, (60), 81–86.
- Papahadjopoulos, D., Allen, T. M., Gabizon, A., Mayhew, E., Matthey, K., Huang, S. K., ... Redemann, C. (1991). Sterically stabilized liposomes: improvements in pharmacokinetics and antitumor therapeutic efficacy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 88(24), 11460–11464. <https://doi.org/10.1073/pnas.88.24.11460>
- Peaston, A., & Maddison, J. (1999). Efficacy of doxorubicin as an induction agent for cats with lymphosarcoma. *Australian Veterinary Journal*, 77(7), 442–444. <https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.1999.tb12087.x>
- Perazella, M. A., & Moeckel, G. W. (2010). Nephrotoxicity From Chemotherapeutic Agents: Clinical Manifestations, Pathobiology, and Prevention/Therapy. *Seminars in Nephrology*, 30(6), 570–581. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2010.09.005>

- Poirier, V. J., Thamm, D. H., Kurzman, I. D., Jeglum, K. A., Chun, R., Obradovich, J. E., ... Vail, D. M. (2002). Liposome-Encapsulated Doxorubicin (Doxil) and Doxorubicin in the Treatment of Vaccine-Associated Sarcoma in Cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 16(6), 726–731. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2002.tb02415.x>
- Polzin, D. J. (2017). Chapter 324: Chronic Kidney Disease. Em S. J. Ettinger, Feldam Edward C., & E. Côté, *Textbook of Veterinary Internal Medicine* (8th ed., pp. 4693–4734). St. Louis, Missouri: Elsevier.
- Rajagopalan, S., Politi, P. M., Sinha, B. K., & Myers, C. E. (1988). Adriamycin-induced Free Radical Formation in the Perfused Rat Heart: Implications for Cardiotoxicity. *Cancer Research*, (48), 4766–4769.
- Ramsey, I. (Ed.). (2017). Doxorubicin (Adriamycin). Em *BSAVA small animal formulary* (9th ed.). Gloucester, UK: British Small Animal Veterinary Association.
- Rashikh, A., Pillai, K. K., Ahmad, S. J., Akhtar, M., & Najmi, A. K. (2013). Aliskiren alleviates doxorubicin-induced nephrotoxicity by inhibiting oxidative stress and podocyte injury. *Journal of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System*, 14(1), 14–22. <https://doi.org/10.1177/1470320312459980>
- Reece, W. O., & Rowe, E. W. (2018). *Functional anatomy and physiology of domestic animals* (5th ed.). West Sussex, UK: John Wiley & Sons Inc.
- Reiman, R. A., Mauldin, G. E., & Mauldin, G. N. (2008). A comparison of toxicity of two dosing schemes for doxorubicin in the cat. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10(4), 324–331. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2007.12.009>
- Ren, S., Li, C., Dai, Y., Li, N., Wang, X., Tian, F., ... Chen, D. (2014). Comparison of pharmacokinetics, tissue distribution and pharmacodynamics of liposomal and free doxorubicin in tumour-bearing mice following intratumoral injection: Pharmacokinetics, distribution and PD of LipDOX. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 66(9), 1231–1239. <https://doi.org/10.1111/jphp.12257>
- Sadler, T. W. (2015). *Langman's medical embryology* (13th ed.). Philadelphia, USA: Wolters Kluwer Health.
- Schnellmann, R. G. (2013). Chapter 14: Toxic Responses of the Kidney. Em C. Klaassen, L. J. Casarett, & J. Doull, *Casarett & Doull's Toxicology*. (8^a). Blacklick: McGraw-Hill Publishing.
- Speth, P. A. J., Van Hoesel, Q. G. C. M., & Haanen, C. (1988). Clinical Pharmacokinetics of Doxorubicin: *Clinical Pharmacokinetics*, 15(1), 15–31. <https://doi.org/10.2165/00003088-198815010-00002>
- Speth, Paul A J, Linssen, P. C. M., Holdrinet, R. S. G., & Haanen, C. (1987). Plasma and cellular Adriamycin concentrations in patients with myeloma treated with ninety-six-hour continuous infusion. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 41(6), 661–665. <https://doi.org/10.1038/clpt.1987.92>
- Takenaka, T., Inoue, T., Miyazaki, T., Kobori, H., Nishiyama, A., Ishii, N., ... Suzuki, H. (2016). Klotho suppresses the renin-angiotensin system in adriamycin nephropathy. *Nephrology Dialysis Transplantation*, gfw340. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfw340>

- Turnberg, D., Lewis, M., Moss, J., Xu, Y., Botto, M., & Cook, H. T. (2006). Complement Activation Contributes to Both Glomerular and Tubulointerstitial Damage in Adriamycin Nephropathy in Mice. *The Journal of Immunology*, 177(6), 4094–4102. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.177.6.4094>
- Verlander, J. W. (2013). Renal physiology. Em B. G. Klein, *Cunningham's textbook of veterinary physiology* (5th ed., pp. 460–494). Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Veterinary and Comparative Oncology Group. (2016). Veterinary cooperative oncology group - common terminology criteria for adverse events (VCOG-CTCAE) following chemotherapy or biological antineoplastic therapy in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Oncology*, 14(4), 417–446. <https://doi.org/10.1111/vco.283>
- Vogt, A. H., Rodan, I., Brown, M., Buffington, C. A. T., Forman, M. J. L., Neilson, J., & Sparkes, A. (2010). AAFP-AAHA: Feline life stage guidelines. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12, 43–54.
- Vogtländer, N. P. J., Tamboer, W. P. M., Bakker, M. A. H., Campbell, K. P., van der Vlag, J., & Berden, J. H. M. (2006). Reactive oxygen species deglycosilate glomerular α -dystroglycan. *Kidney International*, 69(9), 1526–1534. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000138>
- Wang, Y. M., Wang, Y., Harris, D. C. H., Alexander, S. I., & Lee, V. W. S. (2015). Adriamycin Nephropathy in BALB/c Mice: Adriamycin Nephropathy in BALB/c Mice. Em J. E. Coligan, B. E. Bierer, D. H. Margulies, E. M. Shevach, & W. Strober (Eds.), *Current Protocols in Immunology* (pp. 15.28.1-15.28.6). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc. <https://doi.org/10.1002/0471142735.im1528s108>
- Wang, Y., Wang, Y. P., Tay, Y.-C., & Harris, D. C. H. (2000). Progressive adriamycin nephropathy in mice: Sequence of histologic and immunohistochemical events. *Kidney International*, 58(4), 1797–1804. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00342.x>
- Withrow, S. J., Vail, D. M., & Page, R. L. (2013). Why Worry About Cancer in Companion Animals? Em S. J. Withrow, D. M. Vail, & R. L. Page, *Withrow and MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (5th ed.). Missouri, USA: Elsevier Saunders.
- Yagmurca, M., Erdogan, H., Iraz, M., Songur, A., Ucar, M., & Fadillioglu, E. (2004). Caffeic acid phenethyl ester as a protective agent against doxorubicin nephrotoxicity in rats. *Clinica Chimica Acta*, 348(1–2), 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2004.03.035>
- Yasuda, K., Park, H.-C., Ratliff, B., Addabbo, F., Hatzopoulos, A. K., Chander, P., & Goligorsky, M. S. (2010). Adriamycin Nephropathy: a failure of endothelial progenitor cell-induced repair. *The American Journal of Pathology*, 176(4), 1685–1695. <https://doi.org/10.2353/ajpath.2010.091071>
- Yerramilli, M., Farace, G., Quinn, J., & Yerramilli, M. (2016). Kidney Disease and the Nexus of Chronic Kidney Disease and Acute Kidney Injury. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 46(6), 961–993. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.06.011>
- Zabielska-Koczyw s, K., Wojtalewicz, A., U zarowska, E., Klejman, A., Wojtkowska, A., Dolka, I., ... Lechowski, R. (2018). Distribution of Glutathione-Stabilized Gold Nanoparticles in Feline Fibrosarcomas and Their Role as a Drug Delivery System for Doxorubicin—Preclinical Studies in a Murine Model. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(4), 1021. <https://doi.org/10.3390/ijms19041021>

- Zhang, J., Clark, J. R., Herman, E. H., & Ferrans, V. J. (1996). Doxorubicin-induced Apoptosis in Spontaneously Hypertensive Rats: Differential Effects in Heart, Kidney and Intestine, and Inhibition by ICRF-187. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 28(9), 1931–1943. <https://doi.org/10.1006/jmcc.1996.0186>
- Zimmermann, K., Hossann, M., Hirschberger, J., Troedson, K., Peller, M., Schneider, M., ... Lindner, L. H. (2017). A pilot trial of doxorubicin containing phosphatidylglycerol based thermosensitive liposomes in spontaneous feline soft tissue sarcoma. *International Journal of Hyperthermia*, 33(2), 178–190. <https://doi.org/10.1080/02656736.2016.1230233>
- Zwahlen, C. H., Lucroy, M. D., Kraegel, S. A., & Madewell, B. R. (1998). Results of chemotherapy for cats with alimentary malignant lymphoma: 21 cases. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, (213), 1144–1149.

V. ANEXOS

Anexo 1 - Descrição geral de diferentes fármacos quimioterápicos (adaptado de Dobson & Lana (2010), Frimberger & Moore (2017), Gustafson & Page (2013))

Fármacos quimioterápicos				
Família	Exemplos	Mecanismo de acção	Características	Eventos adversos comuns na família
Compostos alquilantes	Ciclofosfamida, clorambucil, melfalan, lomustina, ifosfamida	Inserção de grupo alquil na cadeia de ADN	Ausência de resistência cruzada entre quimioterápicos	Mielossupressão, toxicidade gastrointestinal, neurotoxicidade, hepatotoxicidade, toxicidade pulmonar, alopecia
Antibióticos anti-tumorais (antraciclina)	Doxorrubicina, epirrubicina, mitoxantrona, dactinomicina, bleomicina	Intercalação do ADN; Inibição da função das topoisomerasas II; Substrato para a bomba responsável pela resistência a múltiplos fármacos (MDR).	Resistência cruzada com outros compostos da mesma classe e outras classes, particularmente com os inibidores mitóticos	Mielossupressão, cardiotoxicidade, toxicidade gastrointestinal,
Antimetabolitos	Citarabina, metotrexato, 5-fluorouracilo, gemcitabina	Interferência com a biossíntese de ácidos nucleicos		Toxicidade gastrointestinal, mielossupressão, neurotoxicidade, hepatotoxicidade
Inibidores mitóticos/ Microtubulares	Taxanos: paclitaxel, docetaxel Vincas: vincristina, vinblastina	Acção no ciclo mitótico; Taxanos: impedimento da despolimerização dos microtúbulos Vincas: impedimento da polimerização dos microtúbulos		Mielossupressão, toxicidade gastrointestinal, neurotoxicidade
Compostos platinados	Carboplatina, cisplatina	Criação de ligações covalentes na cadeia de ADN	Ausência de resistência cruzada entre quimioterápicos	Nefrotoxicidade, mielossupressão, neurotoxicidade, ototoxicidade, reacções anafiláticas
Inibidores das topoisomerasas	Inclui as antraciclina s (topoisomerasas II), epipodofilotoxinas: etopósido, tenipósido	Inibição das topoisomerasas I e II		Mielossupressão, toxicidade dermatológica
Inibidores da tirosina quinase	Masitinib, toceranib	Inibição de proteínas quinases		Toxicidade gastrointestinal
Corticosteróides e AINES	Prednisona, prednisolona, piroxicam	Córtico: apoptose de células tumorais de tecidos hematopoiéticos AINE: inibição da angiogénese e COX-2		Toxicidade gastrointestinal

Outros

L-asparaginase

Inibição da asparagina sintetase (essencial para a metabolização da asparagina pelas células tumorais)

Desenvolvimento de anticorpos contra o fármaco

Reacções anafiláticas, toxicidade gastrointestinal

Anexo 2 – Dados populacionais

G#	Idade (anos)	Sexo	Peso (kg)	HP	QT	#Sess/DC (mg/m²)	Azotémia	TA (dias)	Seguimento (dias)/Desfecho
1	11	F	3,4	CM	Adj	1/25	Sim	21	28/NV
2	10	M	6,8	FS	Adj	1/25	Sim	21	1091/Eut
3	12	F	NA	FS	Adj	1/25	Sim	21	32/NV
4*	17	F	3,6	FS	Pr	1/25	Sim	21	80/Eut
5	14	F	3	FS	Neo	2/50	Sim	280	610/MN
6	17	F	4,1	CM	Adj	2/50	Sim	42	221/MN
7	8	M	5,5	HS	Neo	2/50	Não	27†	27/Eut
8	14	F	NA	FS	Neo	2/50	Não	40†	40/NV
9*	13	F	4,1	CM	Adj	3/75	Sim	84	495/Eut
10	11	F	NA	CM	Adj	3/75	Sim	77	147/MN
11	9	F	5,5	CM	Adj	3/75	Não	64†	64/NV
12	13	F	3,2	CM	Adj	4/100	Sim	86	324/Eut
13	12	F	4,4	CM	Adj	4/100	Sim	84	210/Eut
14*	12	F	3,3	FS	Neo	4/100	Não	468†	468/Eut
15	10	M	3,4	OS	Neo	4/100	Não	820†	820/NV
16	8	F	6,8	FS	Neo	4/100	Não	121†	121/NV
17	12	F	4,4	CM	Adj	5/125	Sim	123	231/NV
18	13	M	4,4	FS	Adj	5/125	Sim	157	539/Eut
19	12	F	4,7	FS	Adj	5/125	Sim	134	649/Vivo
20	13	F	5,1	CM	Adj	5/125	Sim	155	176/Eut
21	11	F	5,2	FS	Neo	5/125	Sim	119	240/NV
22	9	F	3,5	CM	Adj	5/125	Não	570†	570/NV
23	6	F	3,85	CM	Adj	5/125	Não	207†	207/Eut
24	7	F	4	CM	Adj	5/125	Não	84†	84/NV
25	10	F	4,6	FS	Adj	5/125	Não	1929†	1929/Vivo
26	10	M	NA	S	Neo	5/125	Não	248†	248/Eut
27	7	M	4,9	FS	Neo	6/150	Sim	159	834/Vivo
28	6	F	6,5	FS	Neo	6/150	Sim	549	819/Eut

G – gato; # - número; HP – histopatologia; QT – protocolo de quimioterapia; Sess – sessões; DC – Dose cumulativa; TA – tempo até azotémia; M - macho; F – fêmea; CM – carcinoma mamário; FS – fibrossarcoma; HS – hemangiossarcoma; OS – osteossarcoma; S – sarcoma; Adj – adjuvante; Pr – primário; Neo – neoadjuvante; NA – sem dados; NV – não voltou; Dx – diagnosticado; E – estadiado; Eut – eutanásia; MN – morte natural; † - censurado; * - adicionou-se fluidoterapia ao protocolo

Anexo 3 – Parâmetros renais por animal

G#	Parâmetros (mg/dL)/Grau	#Sessão/Dose cumulativa (mg/m ²)							Notas
		0	1/25	2/50	3/75	4/100	5/125	6/150	
1	Creat/Grau	2/0	4,3/2	-	-	-	-	-	
	Ureia/Grau	25/0	26/0	-	-	-	-	-	
2	Creat/Grau	1,89/0	2,51/1	-	-	-	-	-	
	Ureia/Grau	78/0	53,7/0	-	-	-	-	-	
3	Creat/Grau	1,83/0	2,48/1	-	-	-	-	-	
	Ureia/Grau	66,1/1	88,1/1	-	-	-	-	-	
4*	Creat/Grau	1,9/0	2,34/1	-	-	-	-	-	
	Ureia/Grau	22/0	57,8/0	-	-	-	-	-	
5	Creat/Grau	1,9/0	1,6/0	1,49/0	-	-	-	-	2,34/1
	Ureia/Grau	37/1	29/0	51,9/0	-	-	-	-	149,1/3
6	Creat/Grau	2/0	2,1/0	2,3/0	-	-	-	-	
	Ureia/Grau	35/0	36/0	39/1	-	-	-	-	
7	Creat/Grau	1,02/0	1,33/0	NA	-	-	-	-	
	Ureia/Grau	51/0	53,9/0	NA	-	-	-	-	
8	Creat/Grau	1,35/0	1,81/1	1,8/0	-	-	-	-	
	Ureia/Grau	37/0	59,2/0	30/0	-	-	-	-	
9*	Creat/Grau	1,49/0	2,14/0	2,36/1	2,9/1	-	-	-	
	Ureia/Grau	82,4/1	62/0	50/0	89/1	-	-	-	
10	Creat/Grau	1,5/0	1,1/0	0,9/0	2/1	-	-	-	
	Ureia/Grau	28/0	29/0	25/0	30/0	-	-	-	
11	Creat/Grau	1,19/0	1,65/0	1,5/0	1,43/0	-	-	-	
	Ureia/Grau	38,4/0	42,4/0	40/0	18/0	-	-	-	
12	Creat/Grau	1,3/0	1,42/0	1,02/0	1,71/0	1,97/1	-	-	
	Ureia/Grau	59/0	40/0	51/0	18,3/0	85,5/1	-	-	
13	Creat/Grau	1,54/0	1,54/0	1,54/0	1,42/0	2,08/1	-	-	
	Ureia/Grau	41/0	55/0	64/0	45/0	35,8/0	-	-	
14*	Creat/Grau	1,9/0	1,44/0	1,33/0	1,4/0	1,24/0	-	-	
	Ureia/Grau	25/0	10/0	82/0	77/0	81/0	-	-	
15	Creat/Grau	1,6/0	1,6/0	1,8/0	1,4/0	1,4/0	-	-	
	Ureia/Grau	25/0	24/0	24/0	24/0	26/0	-	-	
16	Creat/Grau	N/0	1,39/0	1,4/0	N/0	1,31/0	-	-	
	Ureia/Grau	N/0	47,1/0	26,2/0	N/0	40,4/0	-	-	
17	Creat/Grau	1,33/0	1,15/0	1,34/0	1,9/0	1,51/0	2,06/1	-	
	Ureia/Grau	41,1/0	41,2/0	48,9/0	21/0	52,7/0	124,4/2	-	
18	Creat/Grau	1,6/0	1,5/0	1,47/0	1,48/0	1,77/0	2,07/1	-	
	Ureia/Grau	56,4/0	27/0	53,5/0	58,7/0	47,6/0	NA	-	

19	Creat/Grau	N/0	1,47/0	2,4/0	1,84/0	1,75/0	1,68/0	-
	Ureia/Grau	N/0	61,9/1	29/0	61,4/1	51,6/0	75,7/1	-
20	Creat/Grau	1,08/0	0,94/0	1,16/0	1,21/0	1,09/0	6,64/4	-
	Ureia/Grau	32,5/0	40,8/0	52,4/0	37,5/0	44,3/0	284/4	-
21	Creat/Grau	N/0	1,37/0	1,12/0	1,29/0	1,36/0	1,6/0	-
	Ureia/Grau	N/0	77,7/0	53,2/0	68,3/0	76,6/0	38/1	-
22	Creat/Grau	1,37/0	1,36/0	1,6/0	1,53/0	1,76/0	1,26/0	-
	Ureia/Grau	18,9/0	41,5/0	15/0	42,2/0	21,2/0	49/0	-
23	Creat/Grau	0,98/0	1,19/0	1,21/0	1,24/0	1,13/0	1,53/0	-
	Ureia/Grau	38,5/0	50,3/0	41,9/0	45,5/0	38/0	58,1/0	-
24	Creat/Grau	0,5/0	1,7/0	1,41/0	1,39/0	1,16/0	NA	-
	Ureia/Grau	46,1/0	16/0	42,6/0	16,7/0	18/0	NA	-
25	Creat/Grau	1,7/0	1,4/0	1,4/0	1,6/0	1,15/0	1,62/0	-
	Ureia/Grau	23/0	22/0	20/0	21/0	36/0	39/0	-
26	Creat/Grau	1,8/0	1,8/0	1,9/0	1,8/0	1,7/0	1,8/0	-
	Ureia/Grau	29/0	23/0	27/0	26/0	20/0	23/0	-
27	Creat/Grau	N/0	1,15/0	1,59/0	1,65/0	1,23/0	1,53/0	1,69/0
	Ureia/Grau	N/0	45,4/0	49,2/0	53,1/0	58,9/0	51,4/0	86/1
28	Creat/Grau	1,42/0	1,7/0	1,83/0	2,52/1	1,76/0	1,65/0	3/1
	Ureia/Grau	46,8/0	35/0	74/0	34/0	32/0	45/0	64/2
Total de gatos		28	28	24	20	17	12	2
% Grau 1	Creat	0	14(4/28)	8(2/24)	15(3/20)	12(2/17)	16(2/12)	50(1/2)
	Ureia	11(3/28)	7(2/28)	4(1/24)	10(2/20)	6(1/17)	16(2/12)	50(1/2)
% Grau 2	Creat	0	3(1/28)	0	0	0	0	0
	Ureia	0	0	0	0	0	8(1/12)	50(1/2)
% Grau 3	Creat	0	0	0	0	0	0	0
	Ureia	0	0	4(1/24)	0	0	0	0
% Grau 4	Creat	0	0	0	0	0	8(1/12)	0
	Ureia	0	0	0	0	0	8(1/12)	0

G – gato; # - número; * - adicionou-se fluidoterapia; Creat - creatinina sérica; Ureia - concentração de ureia azotada sanguínea; N – valor não encontrado, no entanto foi garantido como normal pelo médico veterinário assistente; NA – sem dados; - - sessão não realizada;

Anexo 4 - Relação entre a dose administrada de 25 mg/m² e a sua conversão em dose por peso corporal (mg/kg)

Peso (kg)	BSA (m²)	Dose (mg) administrada por kg	Dose (mg) administrada por m²
3	0,208008	1,733403	5,20021
3,2	0,217153	1,696511	5,428835
3,3	0,221654	1,679198	5,541355
3,4	0,22611	1,662572	5,652744
3,4	0,22611	1,662572	5,652744
3,5	0,230522	1,646584	5,763045
3,6	0,234892	1,631195	5,872301
3,85	0,245645	1,595095	6,141114
4	0,251984	1,574901	6,299605
4,1	0,256167	1,561992	6,404166
4,1	0,256167	1,561992	6,404166
4,4	0,268515	1,525653	6,712873
4,4	0,268515	1,525653	6,712873
4,4	0,268515	1,525653	6,712873
4,6	0,276591	1,503214	6,914783
4,7	0,280586	1,492476	7,014638
4,9	0,28849	1,471888	7,212249
5,1	0,296288	1,45239	7,40719
5,2	0,300148	1,44302	7,503702
5,5	0,311584	1,416291	7,7896
5,5	0,311584	1,416291	7,7896
6,5	0,348291	1,339581	8,707275
6,8	0,358927	1,319584	8,973171
6,8	0,358927	1,319584	8,973171

- Increase in serum creatinin and/or urea, in cats undergoing doxorubicin administration

1. Integrated Master Student of Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Portugal
2. School Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Portugal
3. CIIISA - Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Portugal

2. Schreiner, H. A. McNeil, G. P. & McNeil, G. W. (2006) A comparison of diversity of tree-feeding arthropods on deciduous trees to that of conifers. *The American Midland Naturalist*, **157**, 321–333.

3. Schreiner, H. A. (2002) Chapter 4.1. *Tree Responses of the Pines*. Ed. D. K. Hansen, L. J. Gassoff, S. D. Oak, C. Gassoff & D. K. Focht. *Forest Ecology and Management*, vol. 146, pp. 1–10. Marcel Dekker, New York.

4. Paine, R. T., Turner, D. L., Hansen, E. D., Jandrey, A. A., Grier, R., Condit, R. J. C., et al. (2002) *Assessing the Ecological and Economic Value of Forests in the Tree-Ring of the World: an Associated Science in the World's Forests*. *World Bank*, Washington, DC.

Although a possible cause-effect relationship is intuitive to observe it is difficult to assess whether progressive renal dysfunction in geriatric tumor bearing cats with possible subclinical renal disease is directly due to the use of doxorubicin. Thus, careful evaluation of renal function prior to administration of the chemotherapeutic agent and monitoring during treatment is advisable. Prospective studies about the nephrotoxic mechanisms of doxorubicin in cats are needed.



Support by Project UID/CVT/ 276/2013 (CIISA)